

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. W. Schmid

Makroskopische und mikroskopische Veränderungen in der Leber nach chronischer Einwirkung von Fremdstoffen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Renate Küllmer

Zahnärztin aus Bebra

Marburg 1966

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. W. Schmid

Makroskopische und mikroskopische Veränderungen in der Leber nach chronischer Einwirkung von Fremdstoffen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Renate Küllmer

Zahnärztin aus Bebra

Marburg 1966



Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität zu Marburg/Lahn am 30.6.66

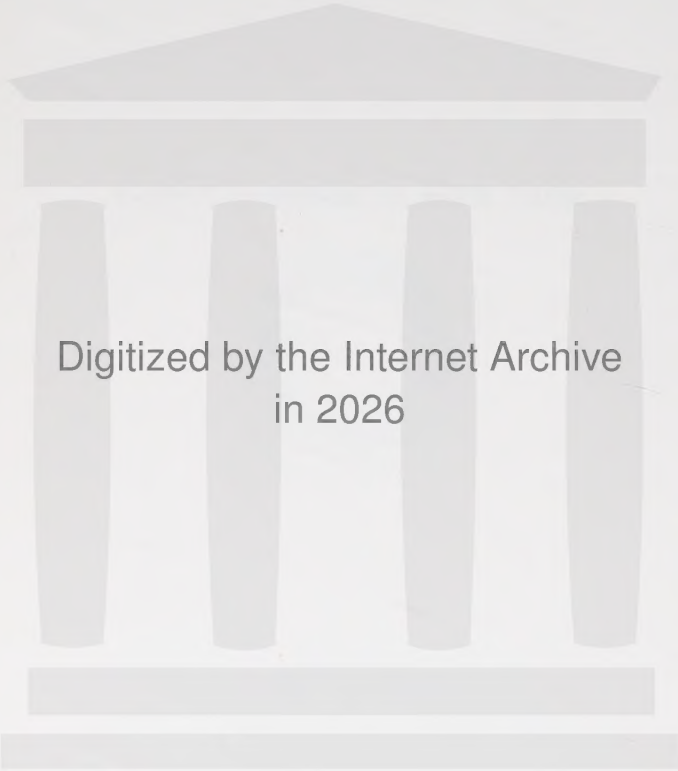
gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. med. O. Braun-Falco

Referent: Prof. Dr. med. W. Schmid

Correferent: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. H. Heuser

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I n h a l t

=====

I. Einleitung

II. Methodik

A

1. Tiermaterial
2. Behandlung der Tiere
3. Messungen während des Versuchsverlaufs
4. Tötung der Tiere

B histologische Aufarbeitung

1. Fixierung
2. Einbettung
3. Färbung

III. Versuchsergebnisse

A Gewichtsergebnisse

1. Ergebnisse bei unbehandelten Tieren(Kontrollen)
2. Ergebnisse nach Pheno barbital/Barbital
3. Ergebnisse nach Diäthylnitrosamin
4. Ergebnisse nach Halothan
5. Ergebnisse nach Kombination von
Phenobarbital/Barbital bzw. Phenobarbital
mit Diäthylnitrosamin
6. Ergebnisse nach Kombination von
Phenobarbital/Barbital mit Halothan
7. Ergebnisse nach Kombination von
Diäthylnitrosamin mit Halothan

B Histologische Befunde

1. Kontrollen
2. 150 mg/kg Phenobarbital/Barbital
3. 300 mg/kg " "
4. 14 mg/kg Diäthylnitrosamin
5. 2 mg/kg "
6. 0,5 % Halothan
7. 75 mg/kg Phenobarbital/Barbital und
7 mg/kg Diäthylnitrosamin

8. 75 mg/kg Phenobarbital/Barbital und
1 mg/kg Diäthylnitrosamin
9. 150 mg/kg Phenobarbital und
14 mg/kg Diäthylnitrosamin
10. 150 mg/kg Phenobarbital und
2 mg/kg Diäthylnitrosamin
11. 150 mg/kg Phenobarbital/Barbital und
0,5 % Halothan
12. 0,5 % Halothan und
14 mg/kg Diäthylnitrosamin
13. 0,5 % Halothan und
2 mg/kg Diäthylnitrosamin

IV. Diskussion

V. Zusammenfassung

VI. Literatur

VII. Tabellen und Abbildungen

I. Einleitung.

Zahlreiche Arbeiten der letzten Jahre berichten über eine Vergrößerung der Leber, die im Tierexperiment durch chronische Zufuhr von verschiedenen Fremdstoffen hervorgerufen wurde. REMMER (10) und CONNEY (1) fanden bei einer Anzahl solcher Substanzen eine Aktivitätszunahme der mikrosomalen Leberenzyme, die mit einer Zunahme des Proteingehalts der Mitochondrien einhergeht. Später stellten MERKER und REMMER elektronenmikroskopisch am Beispiel des Pheno barbital eine Vermehrung des endoplasmatischen Reticulums fest. Das Phänomen der Lebervergrößerung wurde am hiesigen Institut in den letzten Jahren eingehender untersucht (2, 3, 6, 7, 8, 9 und 15). Nach den bisherigen Ergebnissen, die vor allem aus Untersuchungen mit Phenobarbital und Halothan stammen, ist die Lebervergrößerung nach der histometrischen Analyse als eine echte Zellhypertrophie aufzufassen. Ihr entsprechen nach der Analyse der chemischen Zellhauptbestandteilgruppen eine dazu parallel laufende Zunahme von Protein und Ribonucleinsäure, später auch der Desoxyribonucleinsäure. Die Analysen des Fettgehaltes wiesen allerdings auf Unterschiede zwischen den beiden Substanzen hin. Neben der Zellvergrößerung finden sich bei beiden Substanzen Anzeichen eines vermehrten Zellumsatzes (Mitosewellen). Daraus ergibt sich die Frage, ob die hier ablaufenden Parenchymveränderungen selbst carcinogen sind und wie sie die Wirkung eines sicheren Carcinogens beeinflussen.

In der vorliegenden Arbeit war die Aufgabe gestellt, Pheno-barbital, Halothan und das seit 1960 durch SCHMÄHL, PREUSSMANN und HAMPERL bekanntgewordene Carcinogen Diäthylnitrosamin im Langzeitversuch zu prüfen und ihre gegenseitige Wechselwirkung im Hinblick auf Größe und histologisches Bild der Leber zu untersuchen.

II. Methodik

A

1. Tiermaterial

Für die Versuche wurden 445 männliche Albinomäuse des Reinzuchtstammes NMRJ - Tübingen der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, Tübingen, herangezogen. Das gesamte Tiermaterial war in gutem Allgemeinzustand und frei von ansteckenden Krankheiten. Die Tierhaltung erfolgte im Tageslichtstall bei 24 - 25°C Raumtemperatur in Kunststoffkäfigen (Makrolon) mit Sägespänen als Streu bei Trockenfutter der Firma Latz und Wasser aus Saugflaschen ad libitum. Zur Beurteilung der Fremdstoffwirkung bei Mangeler ernährung wurde eine Versuchsserie mit Brot und Karotten gefüttert. Den Versuchsserien liefen Kontrollgruppen von unbehandelten Mäusen parallel. Um genaue Vergleiche zu ermöglichen, wurden als Ausgangsmaterial im Alter (3-4 Wochen) und Körpergewicht (20-24,5 g) weitgehend einheitliche Tiere herangezogen. Die Dauer des Experiments mußte auf maximal 8 1/2 Monate beschränkt werden, da bereits nach 4 Wochen nicht versuchsbedingte Spontan Todesfälle auftraten, deren Ursache nach der Symptomatik nicht zu klären war. Die in unregelmäßigen Abständen zunehmende Durchseuchung ließ einen Ektromeliebefall nicht ausschließen, auch im späteren Verlauf häufig beobachtete "dicke Köpfe" als Folge einer unspezifischen Lymphdrüsenanschwellung erlaubten keine Differenzierung des Krankheitsbildes.

Da die Ergebnisse in jedem Falle durch diese versuchsunabhängigen Erkrankungen überlagert oder verwischt werden mußten, erschien es angezeigt, die vorzeitig spontan zu Tode gekommenen Tiere nicht in die Auswertung einzubeziehen, und da bei allen Gruppen - auch bei den Kontrollen - vor der jeweils erzwungenermaßen durchgeführten Abschlußtötung die Spontan Todesfälle einem Massensterben glichen, war im Endstadium des Experiments der versuchsbedingte Tod nicht mehr abzugrenzen (Tb. 1).

Die spätere Beschreibung der Tiere hinsichtlich ihrer Verhaltensweise bezieht sich auf die substanzbedingte Reaktion. Die interkurrent erkrankten Tiere wurden hierbei nicht berücksichtigt.

2. Behandlung der Tiere

Für die relativ lange Versuchsdauer bis zu 8 1/2 Monaten wurde, wie in den Versuchen von THAL, neben der Inhalationsbehandlung die perorale Applikationsform gewählt.

a) Trinkversuche

Als einfachste Form der peroralen Verabreichung erwies sich das Angebot der Substanzen im Trinkwasser. Dabei war die Konzentration der Lösungen so berechnet, daß die Tagesstrickmenge von 5 ml pro Tier die in Frage kommende Tagesdosis pro kg Körpergewicht enthielt.

Alle Lösungen wurden aus höher konzentrierten Stammlösungen täglich frisch angesetzt. Die Tiere standen bei dieser Behandlungsweise - in Abhängigkeit von ihren Trinkgewohnheiten - unter einer Dauerwirkung des Fremdstoffes.

Infolge einer leider sehr spät entdeckten Lieferungsspanne wurde ab dem 4. Behandlungsmonat statt Phenobarbital Barbital verabreicht. Ein Vergleichsversuch mit wachsenden Tieren (Ausgangsgewicht 23 g) ergab für Barbital (200 mg/kg) nach 14 Tagen Behandlung bei 24 % stärkerem Körperwachstum ein um 16 % kleineres relatives Lebergewicht als bei Phenobarbital (200 mg/kg). Ein zweiter Versuch mit schweren Tieren (Ausgangsgewicht 35 g), gleicher Substanzdosierung und Einwirkungs-dauer zeigte bei um 14 % gesteigerter Körpergewichtszunahme für Barbital ein um 14 % geringeres relatives Lebergewicht als für Phenobarbital. Nach 3 Wochen betrug die Körpergewichtsvergrößerung für Barbital 6,6 % mehr als für Phenobarbital, die Minderung des relativen Lebergewichts 22 %. Das rückläufige Lebergewicht bei allen Phenobarbital-Barbital-Versuchen einschließlich der Kombinationen geht daher weitgehend auf das Konto des weniger stark wirksamen Barbitals.

Behandlung mit Phenobarbital/Barbital.

Eine Tiergruppe erhielt 150 mg/kg Phenobarbital p.o. Unter dieser Dosierung konnte während der gesamten Behandlungsdauer in keinem Fall eine narkotische Wirkung beobachtet

werden. Eine weitere Gruppe erhielt 300 mg/kg Phenobarbital, bei der eine vermehrte Schlafentiefe während der nach der Freßzeit üblichen Ruhepause zu beobachten war, insbesondere während der ersten Wochen. Die Tiere ließen sich - unterschiedlich zu der ersten Gruppe - nur bedingt wecken. Bei beiden Gruppen bestand eine relativ gleichmäßige, bei der ersten mit Sicherheit unerschwellige Phenobarbital-Wirkung.

Behandlung mit Diäthylnitrosamin (DÄNA)

Zwei Versuchsgruppen bekamen Diäthylnitrosamin, die eine 2 mg/kg, die andere 14 mg/kg. In der Verhaltensweise dieser Tiere waren keine Besonderheiten zu bemerken.

Kombinationsbehandlung mit Phenobarbital und Diäthylnitrosamin (DÄNA)

Auch hier wurden zwei Tiergruppen eingesetzt. Die erste erhielt 75 mg/kg Phenobarbital und 1 bzw. 7 mg/kg DÄNA, die zweite Serie bekam 150 mg/kg Phenobarbital und 2 bzw. 14 mg/kg DÄNA. Dabei fiel auf, daß die Tiere mit der jeweils höheren DÄNA-Dosis weniger Flüssigkeit zu sich nahmen.

b) Inhalationsversuche mit Halothan

Versuchsordnung

Die Inhalationsbehandlung wurde mit einem geeichten Verdampfer ("Vapor" der Firma Dräger, Lübeck) durchgeführt, bei dem eine genaue Einstellung der mit der Temperatur im Verdampfungsgefäß (24-26°C) koordinierten Narkosegaskonzentration möglich war. Während der Behandlung befanden sich die Tiere in vier mit Silikon abgedichteten Exsikkatoren von 2,75 l Fassungsvermögen, die in konstant 25°C warmem Wasserbad standen. Dem Verdampfer wurde zur Aufnahme des Narkotikums Sauerstoff mit einem Flow 1,5 l zugeführt. Das Gasgemisch gelangte von hier aus über einen zwei Meter langen - ebenfalls im Wasserbad befindlichen - Schlauch zu den Exsikkatoren. Aus den seitlichen Exsikkatorenstutzen leitete ein zwei Meter langer Faltschlauch von 2,5 cm Durchmesser das durchströmende Gas ins Freie.

Inhalationsbehandlung mit Halothan

Alle Tiere dieser Versuchsserie inhalierten 1/2 Jahr bzw. 8 1/2 Monate lang täglich (außer sonntags) eine Stunde lang 0,5 % Halothan. Hierzu wurden im ersten Vierteljahr jeweils 7 - 8 Tiere und später, als sie an Gewicht zugenommen hatten, 4 - 5 auf ein Drahtnetz im Exsikkator gesetzt. 0,5 % Halothan entsprachen einer nicht narkotischen Konzentration. Für die Maus liegt die 50 %ige Seitenlagenkonzentration bei 0,7 %, die 100 %ige bei 1 % Halothan. Im Verlauf der ersten 2 - 3 Monate gerieten die Versuchstiere während der täglichen Behandlung in ein leichtes Excitationsstadium, welches nach Zurücksetzen in die Käfige noch ca. 5-10 Minuten anhielt. Mit zunehmender Versuchsdauer steigerte sich die Wirkung des Halothans. Die Tiere wurden nach 15-20 Minuten anhaltender Excitation schläfrig und bewegten sich nur noch wenig in den Exsikkatoren. Nach Abschalten des Gases waren sie aber sofort wieder mobil und - in die Käfige zurückgesetzt - erschienen sie in ihrer Sauf- und Freßlust sowie in ihrem Bewegungsdrang für kurze Zeit gesteigert, um dann in einen ca. 1-stündigen Schlaf überzuwechseln, ohne daß jedoch die üblichen, durch Berührung auslösbaren Schreckreaktionen verzögert aufgetreten oder Gleichgewichtsstörungen erkennbar gewesen wären.

Kombinationsbehandlung mit Halothan und Phenobarbital

Diese Tiergruppe erhielt 150 mg/kg Phenobarbital und inhalierte zusätzlich täglich 1 Stunde (außer sonntags) 0,5 % Halothan. Die Wirkung war stärker als bei der reinen Halothanbehandlung und nahm mit der Versuchsdauer zu. Die Tiere schliefen während der Inhalation fest und waren vereinzelt tief narkotisiert. Nach Herausnahme aus den Exsikkatoren excitierten die meisten Tiere ca. 15 Minuten und verfielen dann in einen 1 - 2stündigen Nachschlaf. Einzelne tief narkotisierte Tiere erwachten meist erst nach 10 - 20 Minuten. Anschließend excitierten sie ebenfalls und schliefen nach.

Kombinationsbehandlung mit Halothan und DÄNA.

In einem zweiten Kombinationsversuch wurden die Tiere einer Dauerbehandlung mit DÄNA (14 mg/kg; 2 mg/kg) im Trinkwasser, täglich 1 Stunde Halothaninhalation (0,5 %) unterzogen.

Excitation und Nachschlaf zeigten sich wie bei reiner Halothan-anwendung. Die Versuchsgruppe mit der höheren DÄNA-Dosis wirkte in den letzten Behandlungsmonaten ausgesprochen antriebslos und geschwächt, hauptsächlich im Anschluß an die Halothanbehandlung.

3. Messungen während des Versuchsverlaufs.

Während der ganzen Versuchsdauer wurde 1 x jede Woche vormittags zwischen 9 und 11 Uhr das Körpergewicht aller Tiere auf einer Mettler-Tierwaage, Modell K 4 (0,1 g ablesbar), ermittelt und in Wachstumskurven dargestellt.

4. Tötung der Tiere.

Bei Abschluß des Experiments wurden die Tiere nach Bestimmung des Körpergewichts 1 Stunde nach der letzten Halothaninhalation immer zwischen 11 und 13 Uhr mit Scherenschlag dekapitiert. Den nach der Tötung sogleich aufgespannten Tieren wurden Thorax und Abdomen durch Medianschnitt eröffnet und nach Entfernung des Magen-Darm-Traktes, des Zwerchfells und der großen Gefäße die Leber entnommen und auf einer Satorius-Feinwaage bis auf 10 mg genau gewogen. Die Lebern fanden vorwiegend zur histologischen Untersuchung Verwendung. Ein Teil wurde für biochemische Untersuchungen zur Verfügung gestellt.

Entsprechend der makroskopisch erkennbaren Veränderungen wurden bei den Tieren einiger Gruppen auch Halslymphdrüsen, Lungengewebsstücke, Magen, Niere und Milz entnommen.

B Histologische Aufarbeitung

1. Fixierung

Der große rechte Leberlappen und die oben aufgeführten Gewebstücke bzw. Organe kamen sofort nach der Entnahme in

eisgekühlten Alkohol p.a., die linken Leberlappen in 10 %iges Formalin.

2. Einbettung

a) Paraffineinbettung

Die alkoholfixierten Präparate wurden nach festgelegtem Zeitplan über Chloroform in Paraffin eingebettet.

Einbettungsplan Chloroform

24	Stunden	Alkohol	100 %	I
24	"	"	"	II
24	"	"	"	III
2	"	Chloroform		I
2	"	"		II
1	"	"		- Paraffin aa
12	"	Paraffin im Vacuumexsikkator,		

Ausgießen und Fertigstellen der Paraffinblöcke

Dieses Einbettungsverfahren ist relativ kurz und gewährleistet eine gute Schneidbarkeit der Präparate.

Mit einem Feinmikrotom der Firma Leitz, Wetzlar, wurden 7,5 μ dicke Bänderschnitte angefertigt, im Wasserbad von 40°C gestreckt, auf Objektträger aufgezogen und anschließend ca. 2 Stunden im Paraffinschrank getrocknet.

b) Gelatineeinbettung

Die formalinfixierten Präparate konnten nach 12 - 16stündigem Wässern in Gelatine eingebettet werden.

Einbettungsplan Gelatine

24	Stunden	12,5 %ige	("dünne")	Gelatine
24	"	25 %ige	("dicke")	"

Ausgießen und Fertigstellen der Gelatineblöcke, Härten der Gelatineblöcke in 4 %igem Formalin.

Mit einem Gefriermikrotom der Firma Leitz, Wetzlar, wurden 7,5 μ dicke Gefrierschnitte hergestellt, diese in Aquadest. aufgefangen, auf einem mit Eiweißglyzerin versehenen Objektträger aufgezogen und an der Luft getrocknet.

3. Färbung

Paraffinschnitte

Entparaffinierung in Xylol

a) Haemalaun-Eosin

b) PAS-Reaktion (periodic-acid-Schiff-reaction)

nach Mc. Magnus zur histochemischen Glykogendarstellung.
Eindecken der Präparate in Rhenohistol.

Gefrierschnitte

c) Fettfärbung nach Michaelis und Herxheimer mit Scharlachrot.

Eindecken der Präparate mit Glyzerin-Gelatine.

C Statistische Auswertung

Mittelwertbestimmung und Berechnung von Streubreite und Signifikanz

Der Mittelwert eines Kollektivs errechnete sich wie folgt:

$$\bar{x} = \frac{S \ x_i}{n}$$

$\bar{x}$ = Mittelwert

S = Summe

x_i = Einzelwert

n = Anzahl der Einzelwerte

Dann war die Streuung des Kollektivs

$$\sigma = \sqrt{\frac{S (\bar{x} - x_i)^2}{n - 1}}$$

die Streuung des Mittelwertes

$$\sigma_m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{S (\bar{x} - x_i)^2}{(n - 1) n}}$$

Die Prüfung der Signifikanz der Differenz vergleichbarer Mittelwerte ergab sich nach der t-Verteilung von Student:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\sigma_{m1}^2 + \sigma_{m2}^2}}$$

Die Wahrscheinlichkeit p wurde nach den jeweiligen Freiheitsgraden ($n_1 + n_2 - 2$) aus den Geigy-Tabellen abgelesen.

Ein $p < 0,02$ (98 % Wahrscheinlichkeit) galt als statistisch gesichert.

III. Versuchsergebnisse

Es war schwierig, das Befinden der Tiere von äußeren Gesichtspunkten her zu beurteilen, da bei Kontroll- wie bei Versuchstieren schon frühzeitig auftretende Streitigkeiten zu heftigen Kämpfen mit oft ausgedehnten Bißwunden führten, wobei nicht selten größere Schwanzteile zum Opfer fielen. Mehrere Mäuse waren so stark zerbissen, daß sie in Einzelkäfigen gehalten werden mußten. Jedoch heilten alle Wunden ohne Komplikationen ab. Da die Halothanbehandlung die Verhaltensweise durch Excitation und Nachschlaf beeinträchtigte, waren während des Versuchsverlaufs für die Beurteilung des Allgemeinzustandes die Beschaffenheit des Fells und das Körpergewicht als einzige Vergleichskriterien heranzuziehen.

A Gewichterergebnisse

Für die nachstehenden Körpergewichtsangaben wurden 5 Behandlungszeitpunkte herausgegriffen:

1. Periode 1 Monat
2. Periode 2 Monate
3. Periode 3 Monate
4. Periode 6 Monate
5. Periode 8 - 8 1/2 Monate.

Die Daten für absolutes und relatives Lebergewicht ergaben sich aus den Sektionsbefunden nach der

3. Periode bei Phenobarbital 150 mg/kg + DÄNA 2 mg/kg und
bei Phenobarbital 150 mg/kg + DÄNA 14 mg/kg.

Alle übrigen Ergebnisse gehören zur

4. Periode 6 Monate
5. Periode 8 - 8 1/2 Monate.

1.) Ergebnisse bei unbehandelten Tieren

Die Tiere befanden sich bis zum Auftreten der interkurrenten Krankheitserscheinungen nach halbjähriger Beobachtung in gutem Allgemeinzustand. Das Fell verlor mit zunehmendem Alter jedoch seine Glätte und war durch Bißwunden entstellt. Das gleiche äußere Erscheinungsbild boten die Tiere auch noch nach 8 Monaten Beobachtungsdauer. Die Sektion erbrachte einen normalen Organbefund. Die Leber war glatt und von dunkelroter Farbe.

a) Körpergewicht

Aus der Körpergewichtskurve ersieht man einen kontinuierlich ansteigenden Wachstumsverlauf. Die jungen Tiere sind zu Versuchsbeginn im Alter von 3 - 4 Wochen 21 g schwer. Bereits nach der 1. Periode haben sie ihr Körpergewicht um 56 % vermehrt, nach der 2. Periode nur noch um 22 % und am Ende der 3. Periode lediglich um 11 %. Innerhalb dieses Zeitraums ist auch das Längen- bzw. Skelettwachstum mit einem Gesamtzuwachs von 110 % zum Abschluß gelangt. Mit einem Körpergewicht von 45 g nach der 4. und 5. Periode ist der Anfangswert um mehr als das Doppelte angestiegen, und der Gesamtzuwachs beträgt bei Versuchsende 114 %. (Abbildung 12)

b) Leberwachstum

Das absolute Lebergewicht nimmt während der 4. Periode proportional und isometrisch mit dem Körpergewicht zu, d.h. das relative Lebergewicht (mg Lebergewicht / g Körpergewicht)

bleibt im Versuchsverlauf, unabhängig vom Alter, weitgehend konstant und liegt nach unseren Beobachtungen um 48 mg/g. Mit den absoluten Zahlen ausgedrückt ergibt sich nach der 4. Periode ein Zuwachs von 1050 mg auf 2197 mg = 109 %, und nach der 5. Periode sinkt dieser Wert wieder auf 1892 = 80 % Gesamtzuwachs ab. (Die Leber einer 20 g schweren Maus wiegt im Mittel 1000 mg). Damit ergibt sich für die Beobachtungsdauer von 6 Monaten ein zu den THAL'schen Werten analoges Verhalten von Körper- und Lebergewicht. Der Gewichtsabfall nach der 5. Periode liegt im Bereich der physiologischen Schwankungen. (Über einen Zeitraum von zwei Jahren beobachtete Tiere zeigen im Alter von 6-10 Monaten nach Erreichen ihrer Maximalgewichte wechselnde Werte und werden später wieder leichter). (Tab.1, Abb. 13)

2.) Ergebnisse nach Phenobarbital/Barbital

150 mg/kg Phenobarbital/Barbital

In ihrem Allgemeinbefinden zeigten sich die Tiere durch die Substanzwirkung wenig beeinträchtigt und unterschieden sich nicht von den Kontrollen.

a) Körpergewicht

Der Körpergewichtsanstieg verläuft kontinuierlich. Die Zuwachsrate nach der 1. Periode beträgt 50 % (56 %)*, nach der 2. Periode 16 % (22 %) und nach der dritten nur 6 % (11 %). Bis zur 3. Periode haben die Tiere ihr Körpergewicht also um 84 % (110 %) des Ausgangswertes vermehrt, nach der vierten nur noch um 4 % (2 %) = 91 % (114 %) Gesamt. Bei Versuchsschluß nach der 5. Periode erfolgt eine Gewichtsabnahme um 2 % (0%), was nunmehr einen Gesamtzuwachs von 88 % (114 %) bedeutet. (Abb. 14, Tab. 1)

* Die in Klammern gesetzten Prozentzahlen beziehen sich auf die Kontrollwerte.

b) Lebergewicht

Hier ist das zum Körpergewicht proportionale Leberwachstum der Kontrollen nicht zu beobachten. Nach der 4. Periode beträgt der Gewichtsanstieg mit 190 % (109 %) Zuwachs fast das Dreifache des Ausgangswertes. In absoluten Zahlen dargestellt ergibt das ein Anwachsen von 1000 mg auf 2898 mg Lebergewicht. Aber ähnlich wie bei den Kontrolltieren fällt auch dieser Wert am Versuchsende auf 2391 mg ab, entsprechend einem Gesamtzuwachs von 139 % (80 %). Hierbei kommt wohl zu physiologischen Schwankungen noch eine Rückläufigkeit durch schwächere Substanzwirkung. (Abb. 15, Tab. 1, 2, 3).

300 mg/kg Phenobarbital/Barbital

Die Tiere wirkten über die ganze Behandlungszeit träge und schläfrig. In regelmäßigem Wechsel folgten Freßzeit (mit Phenobarbital/Barbital-Aufnahme!), torkelndes Umherlaufen und längere Schlafperiode. Weckbar waren die Tiere jederzeit. Das Fell verhielt sich wie bei den Kontrollen. Bißwunden gab es seltener, da die laufende Sedierung für vorteilhaften Stallfrieden sorgte.

a) Körpergewicht

Bei nahezu gleichem Ausgangsgewicht zu der vorhergenannten Gruppe beträgt der Zuwachs nach der 1. Periode nur 37,6 % (56 %). Nach der 2. Periode zeigt sich eine Vermehrung um 20 % und nach der dritten um 8 %. Zusammen ergibt das eine Körpergewichtszunahme von 78 % nach der 3. Periode und von insgesamt 92 % nach der vierten. Mit dieser Steigerungsquote ist die der Phenobarbital/Barbital-Gruppe mit niedriger Konzentration erreicht und wird am Versuchsende nach der 5. Periode durch den Zuwachs von 1 % = 93 % Gesamt knapp übertroffen. Dieser relativ langsamere aber kontinuierliche Anstieg des Körpergewichts mag darin seine Erklärung finden, daß die Tiere zu Versuchsbeginn stärker unter der

narkotischen Phenobarbital/Barbital-Wirkung standen und in ihrer Sauf- und Freßlust geschwächt waren (Abb. 14, Tab.1).

b) Lebergewicht

In dieser Serie beträgt nach der 5. Periode der Zuwachs zum Ausgangswert von 1025 mg Lebergewicht mit 2619 mg 156 %, wobei die Vergrößerung mit der verhältnismäßig hohen Dosierung von 300 mg/kg Phenobarbital/Barbital nach dieser Zeit nur 17 % mehr ausmacht als bei der vorher genannten Gruppe (150 mg/kg Phenobarbital/Barbital). (Tab.1,2,3,Abb.15)

3.) Ergebnisse nach DÄNA

Das Allgemeinbefinden dieser Tiere unterschied sich nach der 3. Periode bei beiden Gruppen nicht von dem der Kontrolltiere, verschlechterte sich dann jedoch bei der Serie mit höherer DÄNA-Konzentration so bedrohlich, daß dieser Versuch nach der 4. Periode abgebrochen werden mußte. Bei der Sektion fielen die Lebern durch ihre makroskopischen Veränderungen auf: Die 2 mg-Dosis hatte eine feinkörnige gelbliche Oberfläche mit brüchiger Beschaffenheit des Organs hervorgerufen. Die Leber war nach der hohen Dosis graugelb, grobknotig und derb.

14 mg/kg DÄNA

a) Körpergewicht

Die Körpergewichtskurve liegt trotz eines hohen Ausgangswertes von 24,5 g während ihres Verlaufs unter denen der anderen Versuchsgruppen. Nach der 1. Periode vermehren die Tiere ihr Gewicht um 26 % und erreichen nach der 3. Periode mit 31,1 g nur einen Gesamtzuwachs von 27 % (110 %), der bei Versuchsende nach der 4. Periode wieder auf 20 % (114 %) absinkt. (Abb. 16, Tab. 1)

b) Lebergewicht

Das Leberwachstum bleibt hinter den Werten aller übrigen Versuchsserien. Bei 1501 mg absolut bedeutet das nach der 4. Periode einen Zuwachs von 44 % (109 %) und beim Gewicht von 59 mg/g 17 % (-2 %) Vermehrung. Im Hinblick auf die hochgradigen pathologischen Veränderungen bleibt aber das Lebergewicht dieser Serie ohne wesentliche Aussagekraft. (Tab. 1, 2, 3, Abb. 17)

2 mg/kg DÄNA

a) Körpergewicht

Das Körperwachstum verläuft anfangs im wesentlichen im Bereich der Kontrollen mit einer Vermehrung von 54 % (56 %) nach der 1. Periode und allmählicher Abnahme der Zuwachsquote: insgesamt 86 % (110 %) nach der 3. Periode, 89 % (114 %) nach der vierten und 79 % (114 %) bei Versuchsende nach der 5. Periode (Abb. 16, Tab. 1).

b) Lebergewicht

Auch die Zuwachsrate des absoluten Lebergewichts von 1075 mg auf 2350 mg entspricht nach der 4. Periode mit 119 % in etwa den Kontrollwerten (109 %), erreicht aber nach der 5. Periode mit 1815 mg nur 69 % (80 %) Gesamtzunahme (Tab. 1, 2, 3, Abb. 17).

4.) Ergebnisse nach Halothan

Diese Tiere befanden sich bis zum Versuchsende in gutem Allgemeinzustand.

Die Leber wies nach beiden Versuchsabschnitten schon makroskopisch deutliche Verfettung mit gelblicher Felderung auf. An den übrigen Organen bestanden keine pathologischen Veränderungen.

a) Körpergewicht

In der Körpergewichtskurve zeichnet sich eine signifikante Wachstumshemmung ab. Der Anstieg innerhalb der 1. Periode

beträgt 40 % (56 %), während der zweiten 17 % (22 %) und der Kontrollwert (110 %) wird nach der 3. Periode mit 76 % Gesamtvermehrung nicht erreicht. Die Gewichte bleiben mit einem stetigen Anstieg auf 83 % (114 %) nach der 4. Periode und 91 % (114 %) nach der fünften noch hinter der Norm zurück (Abb. 18, Tab. 1).

b) Lebergewicht

Die Lebern dieser Gruppe gehören mit 2724 mg im Mittel nach der 4. Periode mit einer Gewichtszunahme von 116 % (109 %) zu den schwersten. Dieser Zuwachs bleibt bis zum Versuchsende nach der 5. Periode mit 2702 mg = 164 % (80 %) Gesamt nahezu konstant. In relativen Zahlen angegeben :
 $62,3 \text{ mg/g (49 mg/g) = 25 \%}$ und $74,3 \text{ mg/g (47 mg/g) = 49 \%}$ Vermehrung (Tab. 1,2,3, Abb. 19).

5.) Ergebnisse nach Kombination von Phenobarbital/Barbital und DÄNA

75 mg/kg Phenobarbital/Barbital und 7 mg/kg DÄNA

Im äußeren Aussehen dieser Tiere fiel ein leicht struppiges Fell auf. Nach der 4. Periode zeigten sie verlangsamte Motilität. Da sich die zunächst vereinzelt auftretenden Spontanodesfälle häuften, mußten die eben noch verbliebenen zwei letzten Mäuse nach der 5. Periode getötet werden. Die Leberoberflächen zeigten dabei makroskopisch je eine Blut-cyste, waren aber sonst glatt, dunkelrotfarben und nicht verändert.

a) Körpergewicht

Das Körpergewicht bleibt in der 1. Periode mit 52 % (56 %) im Normbereich, hinkt dann aber nach und beträgt nach der 3. Periode im Gesamtzuwachs 71 % (110 %) und nach der 4. Periode durch einen 6,4 %igen Verlust nur noch 60 % (114 %). Bei Versuchsende resultiert lediglich ein Gewichtsanstieg um die Hälfte des Ausgangswertes: 50 % (114 %) (Abb.16, Tab.1).

b) Lebergewicht

Das Leberwachstum dieser Tiere erfährt bis zur Tötung nach der 5. Periode mit 1665 mg einen Zuwachs von nur 52 % (80 %). Das relative Lebergewicht von anfangs 50 mg/g geht mit 49,2 mg/g um 2 % unwesentlich zurück. Diese Daten lassen wiederum keinen Schluß auf die pathologisch- anatomischen Veränderungen der Organe ziehen (Tab.1,2,3, Abb. 17).

75 mg/kg Phenobarbital/Barbital und 1 mg/kg DÄNA

Bei dieser Gruppe fiel gegen Versuchsende ebenfalls das leicht struppige Fell auf.

Bei der Sektion war an der Leber in wenigen Fällen eine unregelmäßige Oberflächenbeschaffenheit mit leichter Verfettung zu erkennen.

a) Körpergewicht

Die Tiere sind in ihrem Körperwachstum relativ wenig gehemmt. Bezüglich des hohen Ausgangsgewichtes von 23,5 g liegt der Anstieg innerhalb der 1. Periode mit 44 % (56 %) im Streubereich der Kontrollen, ebenso nach der zweiten mit 11 % (22 %) Vermehrung. Von nun an bleiben jedoch die Gewichte hinter den Normalwerten deutlicher zurück und erreichen nach Ablauf der 3. Periode einen Gesamtzuwachs von 66 % (110 %), der nach der vierten auf 70 % (114 %) steigt. Diesen Verlauf behält das Kurvenbild mit nur 1 % Gewichtsverlust bis zum Abschluß des Versuchs nach der 5. Periode bei (Abb. 16, Tab. 1).

b) Lebergewicht

Die absolute Vergrößerung der Leber auf 2167 mg = 84 % (80%) kommt den Werten der Kontrolltiere nahe. Das relative Lebergewicht liegt mit seinem Zuwachs von 9 % bei 55 mg/g ebenfalls in Kontrollnähe (Tab. 1, 2, 3, Abb. 17).

150 mg/kg Phenobarbital und 14 mg/kg DÄNA

Diese Kombinationsserie erhielt - wie auch die nachfolgende Gruppe - während der ganzen Versuchsdauer durchweg Pheno-barbital (ohne Barbital!).

Oggleich die Tiere unter einer sehr hohen Dosiswirkung standen, war nach ihrem Allgemeinzustand bis zum Ende der 3. Periode kein Krankheitsgeschehen zu erkennen. Auch die Sektion erbrachte normale Befunde.

Nach der 4. Periode machten die Tiere jedoch bei ziemlich struppigem Fell einen allgemein dekrepiden Eindruck. Die Lebern waren nach dem zweiten Versuchsabschnitt knotig verändert. Der Vormagen zeigte auffallend stark verdickte Schleimhaut.

a) Körpergewicht

Mit einem Gewichtsanstieg von 52 % (56 %) während der 1. Periode, von 1 % (22 %) innerhalb der zweiten und mit 5 % Verlust (+11 %!) bis zum Ende der dritten kommt es zu einem Gesamtzuwachs von nur 46 % (110 %). Eine weitere Gewichtsabnahme von 9 % bis zum Versuchsende nach der 4. Periode = 33 % (114 %) Gesamtanstieg läßt die bei allen hochdosierten DÄNA-Gaben auftretende Rückläufigkeit im Kurvenbild erkennen (Abb. 16, Tab. 1).

b) Lebergewicht

Das absolute Gewicht hat sich nach der 3. Periode nur um 84 % (109 %) erhöht. Die Vermehrung des relativen Wertes beträgt mit 64 mg/g = 28 %. Nach der 4. Periode ist das absolute Gewicht um 22 % niedriger geworden. Der Gesamtzuwachs beträgt jetzt nur noch 61 %. Relativ ist eine Abnahme auf 59,6 mg/g = 7 % zu verzeichnen. Während also innerhalb der 3. Periode noch die Phenobarbitalwirkung dominiert, ist es bis zum Ende der 4. Periode zu einer Schrumpfung der Leber gekommen, welche die DÄNA-Wirkung in den Vordergrund bringt (Tab. 1,2,3, Abb. 17).

150 mg/kg Phenobarbital und 2 mg/kg DANA

Wie bei der Gruppe zuvor wurde auch hier keine **nennenwerte** Beeinträchtigung des Allgemeinzustandes bemerkt. Die Lebern erschienen makroskopisch unauffällig und nicht merklich vergrößert.

a) Körpergewicht

Das Körperwachstum vollzieht sich kontinuierlich, ist aber ab der 1. Periode durch kleinere Zuwachsquoten gekennzeichnet: 2,9 % (21,6 %) nach der zweiten, 1,4 % (11 %) nach der 3. Periode. Während der 4. Periode wird mit 8 % Zunahme wieder teilweise aufgeholt. Der Gesamtzuwachs von 77 % liegt aber noch weit hinter den Kontrollen (114 %) zurück (Abb. 16, Tab. 1).

b) Lebergewicht

Das absolute Lebergewicht steigt nach der 3. Periode bis 2372 mg um 116 % (109 %) an und bleibt bis Versuchsende nach der 4. Periode bei diesem Wert (2380 mg = 116 %). Relativ beträgt die Steigerung nach der 3. Periode mit 65,4 mg/g 31 %, nach der 4. Periode mit 60,9 mg/g nur noch 22 %. Dies spricht für einen beginnenden leichten Schrumpfungsprozeß (Abb. 17, Tab. 1, 2, 3).

c. Ergebnisse nach Kombination von 150 mg/kg Phenobarbital/Barbital und 0,5 % Halothan

Gegen Versuchsende wurde das Fell der Tiere im Vergleich zu den Kontrollen auffallend struppig. Für einen krankhaften Allgemeinzustand bestanden aber sonst keine Anzeichen. Besonders nach dem ersten Versuchsabschnitt fiel am Sektionsbefund schon makroskopisch die Starke Vergrößerung der Leber mit gelblicher Fettfärbung auf. Die übrigen Organe boten keine sichtbaren Veränderungen.

a) Körpergewicht

Die Körpergewichtskurve macht wie bei fast allen Versuchsserien einen leicht gehemmten Wachstumsanstieg sichtbar. Nach der 1. Periode liegt die Gewichtsvermehrung von 29 % (56 %), trotz des hohen Ausgangswertes von 23,4 g, unter der Norm. Die zweite Periode von 12 % und die dritte von 11 % erzielen lediglich einen Gesamtzuwachs von 60 % (110 %). Während allein mit Halothan behandelte Tiere nach dieser Zeit immer noch im Gewicht ansteigen, bleiben die Werte dieser Gruppe bis zum Ende der 5. Periode nahezu konstant. (Abb. 18, Tab. 1)

b) Lebergewicht

die auffälligste Lebervergrößerung aller Versuchsserien findet sich bei dieser Kombination. Die 4. Periode endet mit einer Zuwachsrate von 250 % (109 %), die jedoch nach der 5. Periode auf 141 % (80 %) zurückgeht. Auch die relativen Werte nehmen mit $107 \text{ mg/g} = 114 \%$ nach der 4. Periode zu und mit $76 \text{ mg/g} = 52 \%$ nach der 5. Periode ab. Der halbjährige Befund spricht für eine additive Wirkung von Phenobarbital/Barbital und Halothan. Die niedrigen Endergebnisse lassen an Gewöhnung denken. Jedoch dürfte auch das schwächer wirksame Barbital mitverantwortlich sein (Tab, 1,2,3, Abb. 19).

7. Ergebnisse nach Kombination von DÄNA und Halothan

14 mg/kg DÄNA und 0,5 % Halothan

Die Tiere boten schon nach wenigen Wochen der Exposition durch Struppigkeit des Fells und erheblich gestörte Motilität ein ausgesprochen krankes Erscheinungsbild, das allmählich die Form der Kachexie annahm. Nach der 4. Periode waren die Lebern zystisch und vor allem knotig verändert. Der Vormagen zeigte eine auffallende Schleimhaut. In zwei Fällen waren Speicheldrüsentumoren und bei einem dritten Tier eine Geschwulst in der Lunge festzustellen.

a) Körpergewicht

Im Wachstumsverlauf dieser Gruppe ist eine langsame Gewichtszunahme bis zum Ende der 3. Periode zu verzeichnen. Von dieser Zeit an erfolgt eine echte Gewichtsabnahme von 6 % bis zum Abschluß der 4. Periode, was den Gesamtanstieg auf 10 % herabsetzt. Nach der 5. Periode ist abermals ein Abfall um jetzt sogar 14 % eingetreten, was, auf das Ausgangsgewicht bezogen, einem Defizit von 6 % entspricht. (Abb. 18, Tab. 1)

b) Lebergewicht

Auch das Lebergewicht nimmt eine Sonderstellung ein und kann nur in direktem Zusammenhang mit der allgemeinen Kachexie (Gewichtsabnahme) beurteilt werden. Unter diesem Gesichtswinkel ist der absolute Leberanstieg um 50 % (4. Periode) und 71 % (5. Periode) als außerordentlich hoch zu bezeichnen, er spiegelt sich auch in den relativen Gewichten von 77 mg/g und 91 mg/g wieder. Doch bleibt hier wie bei reiner DÄNA-Applikation (14 mg/kg) das Gewichtskriterium in seiner Bedeutung hinter dem pathologisch-histologischen Befund zurück (Tab. 1,2,3, Abb. 19).

2 mg/kg DÄNA und 0,5 % Halothan

Bis gegen Versuchsende waren im Verhalten sowie Aussehen der Gruppe keine krankhaften Veränderungen feststellbar. Die Tiere wirkten etwas träger und neben oberflächlichen Bißwunden zeigten sie ein weniger glattes Fell. An der Leber fiel zunächst eine makroskopisch deutlich sichtbare Felderung und bei Versuchsende grobknotige, derbe Beschaffenheit des Organs auf. Nach der 4. Periode fand sich in einem Fall ein Speicheldrüsentumor, nach der 5. Periode ebenfalls einmal ein Speicheldrüsentumor, außerdem eine Geschwulst in der Lunge.

a) Körpergewicht

Das Körpergewicht stellt eine kontinuierlich ansteigende Kurve dar, die - zeitlich wie bei der vorhergenannten Serie - innerhalb der 4. Periode leicht abfällt. Der Ausgangswert von 24,5 g erhöht sich nach der 1. Periode um 38 % (56 %), nach der zweiten um 11 % (22 %) und nach der dritten nur noch um 4 % (11 %). Es ergibt sich ein Vierteljahreszuwachs von 59 %, der sich bis zum Ende des Experiments nur um weitere 2 % vermehrt. (Abb. 18, Tab. 1)

b) Lebergewicht

Ogleich das Verhalten des Lebergewichts wie bei den vorhergehenden Versuchen zu einer vorsichtigen Bewertung zwingt, erhellt aus dem Vergleich mit den Einzelsubstanzen (Halothan und DÄNA 2 mg/kg), daß unter Berücksichtigung der kontroll-ähnlichen DÄNA-Wirkung bei dieser Kombination mit ihren für absolutes und relatives Gewicht erhöhten Daten ein Überwiegen des Halothans vorliegt (Tab. 1,2,3, Abb. 19).

B Histologische Befunde

Die Mehrzahl der histologischen Schnitte wurde selbst hergestellt und befundet. Einen Teil der Organe bearbeitete und befundete Herr Dr. Thomas vom Pathologischen Institut der Universität Bonn, dem an dieser Stelle Dank gesagt sei.

Nach Dr. Thomas gliedert sich die Leberschädigung in
leichte toxische Schädigung (Glykogenentspeicherung),
toxische Schädigung (Glykogenentspeicherung, Verfettung),
schwere toxische Schädigung (Glykogenentspeicherung,
Verfettung, Parenchymnekrosen).

1.) Kontrollen

An Leber, Niere und Magen ist kein pathologischer Befund zu erheben (Abb. 1, 5a).

2.) 150 mg/kg Phenobarbital/Barbital

a) Nach 6 Monaten (4 Präparate) :

Die Leberpräparate zeigen einen regelrechten läppchenförmigen Aufbau. In der Umgebung der Zentralvenen sind die Leberzellen vergrößert, ihr Cytoplasma ist fein granuliert. Die Zellkerne sind meist unterschiedlich groß und sehr chromatinreich. Teilweise ist eine mäßiggradige Hyperplasie der Kupfer'schen Sternzellen zu erkennen.

In den PAS-gefärbten Schnitten findet sich vereinzelt eine zentrale Glykogenverarmung.

Diagnose: Leichte toxische Leberschädigung (Abb. 21)

b) Nach 8 Monaten (7 Präparate) :

Das histologische Bild der Leber unterscheidet sich hier nicht wesentlich vom vorhergehenden. Bemerkenswert sind ein Fall (14 %) mit großtropfiger Verfettung und zwei Fälle (28 %) mit kleinsten Parenchymnekrosen.

Diagnose: Vorwiegend leichte toxische Leberschädigung (Abb. 21)

3.) 300 mg/kg Phenobarbital/Barbital

Nach 8 Monaten (10 Präparate) :

Der Läppchenaufbau der Leber ist regelrecht. Die zentralen Zellen sind erheblich vergrößert (Abb. 2c), die Kerne polymorph und chromatinreich. Die periportalen Felder erscheinen teilweise sehr glykogenreich. Im Vergleich mit den Schnitten der geringeren Dosierung fällt hier eine, in den einzelnen Präparaten zwar unterschiedliche, insgesamt aber reichliche mittelgroßtropfige Verfettung auf (Scharlachrotfärbung).

Diagnose: Leichte bis mittelschwere toxische Leberschädigung (Abb. 21)

4.) 14 mg/kg DÄNA

Nach 6 Monaten (6 Präparate) :

Histologisch zeigt die Leber ausgeprägte Pseudogallengangswucherungen, teils herdförmig, teils diffus konfluierend mit cystisch aufgeweiteter Lichtung. Daneben erkennt man eine deutliche Hyperplasie der Kupfer'schen Sternzellen. Stellenweise beobachtet man größere Hohlräume, die von einem mehrschichtigen Endothel ausgekleidet werden und gelegentlich solide Partien bilden. In der Lichtung dieser Hohlräume befindet sich reichlich Blut. Der Befund entspricht den sogenannten "Blutcysten" (50 %), die zu den malignen Tumoren zählen. In den Wandbezirken einzelner Cysten ist eine stärkere Wucherung der Endothelzellen zu erkennen, so daß hier bereits ein Hämangioendotheliom vorliegt (Einzelfall).

Der Vormagen zeigt eine sehr ausgeprägte Hyperkeratose an der Oberfläche der Schleimhaut und stärkere Proliferationstendenz im Bereich der Basalschicht. Diese reicht jedoch nur bis zur Submucosa und durchbricht nicht die Muscularis propria.

Diagnose: Lebercirrhose (Abb.11), Blutcysten(50%)(wie Abb.3)
Hämangioendotheliom als Einzelfall (wie Abb.4)
Vormagenhyperkeratose (wie Abb. 5b)(Abb. 21, 22)

5.) 2 mg/kg DÄNA

a) Nach 6 Monaten (5 Präparate) :

Hier ergibt sich, abgesehen von einer leichten Hyperplasie der Sternzellen bei 20 % des Materials, ein weitgehend normaler Leberbefund.

Diagnose: Keine wesentlichen krankhaften Veränderungen an der Leber.
(Abb. 21, 22)

b) Nach 8 Monaten (11 Präparate):

Auch nach achtmonatiger Exposition bewirkt die kleine DÄNA-Dosierung keine bedeutende Leberschädigung. Lediglich bei

10 % ist eine leichte Verfettung und Hyperplasie der Sternzellen festzustellen.

Diagnose: Weitgehend normaler Leberbefund
(Abb. 21, 22)

6.) 0,5 % Halothan

Nach 6-8 Monaten (16 Präparate) :

Die untersuchten Lebern haben einen regelrechten Läppchen-
aufbau. Die Zellen sind in der Umgebung der Zentralvenen
stark vergrößert (Abb. 2b), in den übrigen Abschnitten des
Hepatons polymorph. Die Kerne weisen unterschiedliche
Größe auf und sind chromatinreich. Gelegentlich fällt
eine Hyperplasie der Kupfer'schen Sternzellen auf. Das
Cytoplasma der Leberzellen ist fein- bis grobvacuolisiert
(Verfettung!). Hin und wieder findet man kleinere Paren-
chymnekrosen. Die PAS-Präparate weisen unterschiedlichen
Glykogengehalt auf. Glykogenreichtum in der Peripherie
und zentrale Entspeicherung wechseln.

Im Scharlachrot-Schnitt der 6-Monatsserie ist eine durch-
schnittlich mäßige mittelgroß- bis großtropfige Verfettung
zu beobachten. Sie beginnt im Hepaton zentral und inter-
mediär und lockert sich nach der Peripherie hin auf.
Nach acht Monaten ist die Verfettung ausgedehnter, aber
nur mittelgroßtropfig.

Diagnose: Mittelschwere toxische Leberschädigung (Abb. 6)
(Abb. 22)

7.) 75 mg/kg Phenobarbital/Barbital und 7 mg/kg DANA

Nach 8 Monaten (2 Präparate) :

Infolge der hohen Sterblichkeit dieser Serie (s. Tabelle)
kamen nur noch zwei Tiere zur Auswertung. Die unter-
suchten Leberstücke zeigen einen weitgehend erhaltenen
Läppchenaufbau. Die Zellkerne sind zum Teil vergrößert.
Stellenweise sind größere Hohlräume mit mehrschichtigem

Endothel ausgekleidet, die "Blutcysten" entsprechen, ausgebildet. An mehreren Stellen ist es bereits zur Ausbildung kleiner Hämangioendotheliome gekommen. Das Cytoplasma der Leberzellen erscheint in den PAS-Präparaten glykogenreich. Die Scharlachrotfärbung bringt eine mäßiggrade feintropfige Verfettung zur Darstellung.

Diagnose: Toxische Leberschädigung, Blutcysten und Hämangioendotheliome (wie Abb. 3 u. 4)
(Abb. 21)

8.) 75 mg/kg Phenobarbital/Barbital und 1 mg/kg DÄNA

Nach 8 Monaten (10 Präparate) :

Die Lebern haben zu je 60 % außer der nach Phenobarbital immer vorhandenen Zellhypertrophie keinen pathologischen Befund. Die restlichen Schnitte zeigen in Einzelfällen Hyperplasie der Kupfer'schen Sternzellen, Glykogenspeicherung und Verfettung. Ein Präparat enthält ein größeres trabekulär gestaltetes Hepatom.

Diagnose: Vorwiegend normaler Leberbefund, vereinzelt mäßige toxische Leberschädigung. Hepatom als Einzelfall (wie Abb. 7)
(Abb. 21)

9.) Phenobarbital 150 mg/kg und DÄNA 14 mg/kg

a) Nach 3 Monaten (6 Präparate) :

Die Leber weist keinen pathologischen Befund auf.

b) nach 6 Monaten (4 Präparate) :

Von den 4 untersuchten Lebern findet sich je ein Präparat mit leichter toxischer Schädigung, beginnender Cirrhose, ausgeprägter Cirrhose und einer Blutcyste.

Am Vormagen zeigt sich in einem Fall eine ausgeprägte Hyperkeratose. Bei den drei anderen Fällen erkennt man eine diffuse papillomatöse Wucherung des Epithels mit

stärkerer Verhornung an der Oberfläche. Zur Tiefe hin zeigt die Neubildung ein infiltratives Wachstum und greift bis auf die Muscularis über. Hierbei handelt es sich um infiltrativ wachsende, leicht verhornende Plattenepithelcarcinome (Abb. 5c).

Diagnose: Leberveränderungen von leicht toxischer Schädigung bis zur ausgeprägten Cirrhose und Blutcyste (je als Einzelfälle).
Vormagenhyperkeratose und Vormagencarcinome (Abb. 21).

10.) Phenobarbital 150 mg/kg und DANA 2 mg/kg

a) Nach 3 Monaten (6 Präparate) :

Die Leber weist keinen pathologischen Befund auf.

b) Nach 6 Monaten (4 Präparate) :

Alle untersuchten Lebern sind leicht toxisch geschädigt (Zellhypertrophie, Kernpolymorphie, Glykogenentspeicherung). Der Vormagen ist teils leicht, teils ausgeprägt hyperkeratotisch (wie Abb. 5b).

Diagnose: Leichte toxische Leberschädigung.
Leichte bis ausgeprägte Vormagenhyperkeratose.
(Abb. 21)

11.) 150 mg/kg Phenobarbital/Barbital und 0,5 % Halothan

Nach 6-8 Monaten (14 Präparate) :

Der Lappchenaufbau der Leber ist regelrecht. Die Zellen sind zentral sehr groß, ansonsten ungleichmäßig vergrößert. Die PAS-Reaktion läßt durchweg eine fleckförmige Glykogenentspeicherung erkennen. Im Verfettungsgrad unterscheiden sich die Lebern der kürzeren Behandlungsserie durch ausgedehnte großtropfige Verfettung von den länger behandelten mit geringerer und nur mittel- bis großtropfiger Verfettung.

Diagnose: Mittelschwere toxische Leberschädigung
(wie Abb. 6) (Abb. 22).

12.) 14 mg/kg DANA und 0,5 % Halothan

a) Nach 6 Monaten (9 Präparate) :

Der Leberaufbau ist zum Teil weitgehend aufgehoben. Es findet sich eine diffuse adenomatöse Pseudogallengangs- oder Gallengangswucherung mit stärkerer Bindegewebsvermehrung. Stellenweise sind ausgeprägte Wucherungen von Fibroblasten und Histiocyten, auch stärkere chronisch entzündliche Infiltrationen zu erkennen. Die periportalten Felder sind teilweise verbreitert.

In einem Präparat (11 %) ist eine größere Blutcyste vorhanden, in einem anderen ein solides Adenohepatom. Bemerkenswert sind zwei extrahepatische Tumoren: bei einem Tier ein verhornendes Plattenepithelcarcinom in der Lunge, bei einem zweiten ein gleichartiges Carcinom in der Parotis.

Die Vormagenschleimhaut ist ausgeprägt hyperkeratotisch.

Diagnose: Lebercirrhose (Abb. 11), eine Blutcyste, ein Adenohepatom (wie Abb. 7).
Zwei extrahepatische Tumoren (Abb. 8).
Ausgeprägte Vormagenhyperkeratose (wie Abb. 5) (Abb. 22).

b) Nach 8 Monaten (4 Präparate) :

Die nach 8 Monaten noch verfügbaren Tiere bieten im Leberbefund ebenfalls das Bild der Cirrhose. In drei Präparaten finden sich Hepatome, Blutcysten und Hämangioendotheliome gleichzeitig, in einem anderen Präparat nur ein verfettetes Hepatom.

Im Vormagen erscheint wieder eine ausgeprägte Hyperkeratose.

Diagnose: Lebercirrhose, Hepatome, Blutcysten und Hämangioendotheliome (wie Abb. 3, 4, 7)
Vormagenhyperkeratose (wie Abb. 5)
(Abb. 22)

13.) 2 mg/kg DÄNA und 0,5 % Halothan

a) Nach 6 Monaten (6 Präparate) :

Der histologische Leberbefund entspricht hier dem nach reiner Halothanbehandlung mit Zellhypertrophie, Glykogen-entspeicherung und Verfettung.

Extrahepatisch findet sich ein verhornendes Speicheldrüsen-carcinom.

Diagnose: Mittelschwere toxische Leberschädigung (wie Abb. 6)
Ein Speicheldrüsencazinom (Abb. 10)
(Abb. 22)

b) Nach 8 Monaten (12 Präparate) :

Der histologische Allgemeinbefund der Leber entspricht dem vorhergehenden. Daneben wird verschiedentlich (17 %) eine beginnende Cirrhose mit einzelnen Pseudogallengängen beobachtet. Bei 41 % der Präparate treten Hepatome zutage.

Außerdem gibt es einen Fall mit einem Lungenadenom.

Diagnose: Mittelschwere toxische Leberschädigung
(wie Abb. 6),
vereinzelt beginnende Cirrhose, Hepatome
(wie Abb. 7).
Ein Lungenadenom.
(Abb. 22)

Bei mehreren Tieren findet sich, unabhängig von Behandlungsdauer und angewandter Substanz, eine leichte Hyperplasie der Milz. Es ist anzunehmen, daß es sich hierbei um eine versuchsunabhängige Veränderung handelt. Ob sie im Zusammenhang mit den interkurrenten Erkrankungen steht, muß offenbleiben.

Nierenschädigungen sind bei allen Präparaten auszuschließen.

IV. Diskussion.

Als Maß für das Leberwachstum hat sich die Ermittlung des relativen Lebergewichts, d.h. des Quotienten absolutes Lebergewicht: Körpergewicht bewährt. Eine wichtige Voraussetzung für die Verwendbarkeit dieser Größe ist, daß Körpergewichtszunahme und Allgemeinzustand der Tiere normal sind. Wie bei THAL ist das relative Lebergewicht im Lebergewichtsbereich zwischen 1000 und 2000 mg konstant. Ist das Wachstum beendet, so ergibt sich eine leichte, durch Fettmast bedingte Rückläufigkeit des relativen Lebergewichts.

Der bei Phenobarbital im Kurzversuch beobachtete Lebergewichtsanstieg bleibt auch nach achtmonatiger Behandlung in nahezu gleicher Höhe erhalten. Dies spricht dafür, daß keine Gewöhnung eingetreten ist. Bei Halothan werden durch subnarkotische Dosen nach acht Monaten ähnliche Werte wie mit narkotischen Dosen nach vier Wochen erreicht.

Histologisch besteht über die ganze mehrmonatige Versuchszeit ein deutlicher Unterschied zwischen Phenobarbital mit ausschließlicher Zellhypertrophie und leichter Glykogenentspeicherung und Halothan mit vorwiegend zentraler Zellhypertrophie, Glykogenentspeicherung und Verfettung. Von besonderem Interesse ist, daß bei beiden Substanzen allein keine Tumoren beobachtet werden. Die Veränderungen nach 6 - 8 Monaten bei Phenobarbital liegen nach THOMAS am Rande des Normalen, bei Halothan auf Grund der Verfettung schon im Bereich der toxischen Schädigung. Bei Diäthyl-nitrosamin (=DÄNA) 14 mg/kg kommt es nach sechs Monaten nur zu einer geringfügigen Zunahme des Lebergewichts, die schwer zu deuten ist, da einerseits cirrhotische Schrumpfungsprozesse, andererseits Tumorbildungen vorliegen. Sicher hat hier die Lebervergrößerung eine andere Ursache als bei Phenobarbital und Halothan. DÄNA 2 mg/kg ruft auch nach acht Monaten noch keine wesentliche Leberschädigung hervor.

Bei der Kombination von Phenobarbital (150 mg/kg) und DÄNA (14 mg/kg) ergibt sich der interessante Befund, daß die lebervergrößernde Wirkung des Phenobarbitals auch nach einem halben Jahr durch DÄNA noch nicht aufgehoben ist, daß andererseits das Phenobarbital die toxische Wirkung des DÄNA zu mindern vermag, was in weniger gehemmtem Körperwachstum und fast fehlender Cirrhose zum Ausdruck kommt. Dies darf wohl darauf zurückgeführt werden, daß Phenobarbital den Abbau des DÄNA beschleunigt. Auch die Tumorbildung ist geringer. Umsomehr fällt auf, daß der Vormagen in relativ großer Zahl zum Plattenepithelcarcinom entartet; ein Befund, der zuerst nicht zu deuten ist.

Nach acht Monaten sind mit nur halber Dosis beider Substanzen infolge hoher Sterblichkeit nur zwei Tiere zur Auswertung gelangt. Bei beiden Tieren finden sich maligne Lebertumoren.

Die Kombination von Phenobarbital (75 u. 150 mg/kg) mit kleinen DÄNA-Dosen (1 und 2 mg/kg) ist unauffällig. Körper- und Leberwachstum bewegen sich im Rahmen der Phenobarbitalwirkung. Das Vorkommen eines Hepatoms kann angesichts der geringen Tierzahl schwer beurteilt werden.

Von der Kombination Phenobarbital + DÄNA setzt sich Halothan + DÄNA deutlich ab. Das Körpergewicht unterliegt von Anfang an einer starken Hemmung bzw. einem Abfall. Dementsprechend steigt das relative Lebergewicht erheblich an. Halothan vermag der Toxizität des DÄNA kaum entgegenzuwirken. Ein auffallendes Ergebnis findet sich bei der Tumorbildung. Die Kombination mit der hohen DÄNA-Dosis (14 mg/kg) zeigt an der Leber nach sechs Monaten zwar keine Verstärkung, doch finden sich extrahepatische (Speicheldrüsen-) Tumoren, die bei DÄNA allein nie auftreten. Nach acht Monaten sind Hepatome und maligne Tumoren in großer Zahl anzutreffen. Besonders eindrucksvoll

ist, daß bei Halothan mit kleiner DÄNA-Dosis (2 mg/kg), die allein keine Tumoren bildet, bereits Hepatome und ein extrahepatischer Tumor beobachtet werden.

Histologisch unterscheidet sich der Typ der Tumoren grundsätzlich nicht von den DÄNA-Tumoren. Aus den Befunden darf nach THOMAS geschlossen werden, daß Halothan selbst als Carcinogen nicht verdächtig ist, daß ihm aber - soweit dies die geringe Tierzahl zuläßt - eine gewisse Syncarcinogenesewirkung beigemessen werden kann. Immerhin verursacht Halothan gesteigerte Umbauvorgänge in der Leber und führt zu toxischer Schädigung, auf deren Boden eine vorverlegte Carcinombildung möglich erscheint.

V. Zusammenfassung

An 445 männlichen weißen Mäusen eines Reinzuchtstammes wurden im Langzeitversuch bis zu 8 1/2 Monaten Dauer Körper- und Leberwachstum sowie das histologische Bild der Leber, bei einem Großteil der Tiere auch von Niere, Milz und Magen untersucht.

1. Das Körperwachstum verläuft bei allen Versuchstieren ab der sechsten Behandlungswoche signifikant unterhalb des Streubereichs der Kontrollen. Die Differenz zu den Vergleichstieren beträgt ab einem Vierteljahr bei der Mehrzahl der Serien durchschnittlich -8 %. Die Gruppen, bei welchen eine hohe DÄNA-Dosis appliziert wurde (DÄNA 14 mg/kg, DÄNA 14 mg/kg + Halothan, DÄNA 14 mg/kg + Phenobarbital/Barbital 150 mg/kg), liegen jedoch wesentlich tiefer (im Durchschnitt -70 %). Auch DÄNA 7 mg/kg + Phenobarbital/Barbital 75 mg/kg fällt im Endstadium erheblich ab.

2. Mit dieser starken Körperwachstumshemmung der zuletzt genannten Gruppen geht ein retardiertes Leberwachstum einher. Die Lebern sind nach ihrem absoluten Gewicht signifikant kleiner als die Vergleichslebern. Es handelt sich hier um eine unkoordinierte Wachstumshemmung: Das Körperwachstum vollzieht sich langsamer, kommt zum Stillstand oder verläuft gar negativ, das Lebergewicht steigt allmählich an. Daraus resultiert eine Erhöhung des relativen Lebergewichts, die nur bedingt als echte Lebervergrößerung zu werten ist. Bei allen Kombinationen zwischen Halothan Phenobarbital/Barbital und der kleinen DÄNA-Dosis (1 und 2 mg/kg) ist die Körpergewichtsminderung im Vergleich mit den Kontrollen wesentlich geringer als der Anstieg des Lebergewichts, so daß die hier vorliegende Lebervergrößerung absolut und relativ als real angesehen werden kann. Die größten Lebern finden sich wie in früheren Untersuchungen (7, 8, 16) bei der Kombination Halothan + Phenobarbital/Barbital, wobei die schwerste Leber ein Gewicht von 4850 mg erreicht.

3. Zum histologischen Bild der Leber kann gesagt werden, daß die Barbitale, wie früher beobachtet, durch Zellhypertrophie, Glykogenentspeicherung und vereinzelt auftretende dosisabhängige Verfettung eine leichte toxische Schädigung bewirken.

Nach Halothan ist vor allem die Verfettung sehr eindrucksvoll und obligat. Das Bild entspricht hier einer mittelschweren toxischen Leberschädigung.

DÄNA verursacht in der niedrigen Dosierung keinen wesentlichen Leberschaden. Nach 14 mg/kg kommt es zur manifesten Cirrhose und bei 50 % des Materials zur Ausbildung maligner Lebertumoren. Gleichzeitig besteht eine ausgeprägte Vormagenhyperkeratose. Bei der Kombination Phenobarbital 150 mg/kg + DÄNA 14 mg/kg sind nach 6 Monaten alle Stadien der Parenchymschädigung bis zur Cirrhose und Ausbildung einer Blutcyste vertreten. Die für DÄNA charakteristische Vormagenhyperkeratose hat sich in 3 von 4 Fällen zum Carcinom entwickelt. Die Kombination Phenobarbital/Barbital + DÄNA mit jeweils halber Dosis ergibt bei 2 überlebenden Tieren nach 8 Monaten Blutcysten und Hämangioendotheliome in der Leber. Phenobarbital 150 mg/kg + DÄNA 2 mg/kg bewirkt nach 6 Monaten eine leichte toxische Leberschädigung. Die Vormagenhyperkeratose ist zur Hälfte leicht, zur Hälfte schwer. Alle übrigen Versuche mit kleineren Kombinationsdosen verursachen noch keine gravierende Leberveränderung.

Die Kombination von Halothan mit Phenobarbital/Barbital spiegelt den Befund der reinen Halothanwirkung wider. Ein gradueller Unterschied besteht nur in der Verfettung (Abb. 20). Das Fehlen ausgedehnter Parenchymnekrosen rechtfertigt daher auch hier die Diagnose der (nur) mittelschweren Leberschädigung.

Beachtenswerte Unterschiede lassen sich bei der Kombination von Halothan mit DÄNA beobachten. Hier trifft man bei

beiden Dosen auf extrahepatische benigne und maligne Tumoren, die sonst nirgends gefunden werden. Bei der kleinen DÄNA-Gabe ist der vorverlegte Cirrhosenbeginn hervorzuheben. Das Fehlen extrahepatischer Tumoren nach längerer Anwendung darf mit der größeren Sterblichkeit dieser Serien in Zusammenhang gebracht werden: die Tiere mit extrahepatischen Tumoren haben den vorgesehenen Untersuchungszeitpunkt nach 8 Monaten nicht erlebt. Dies bleibt allerdings nur eine unbestätigte Annahme, da die spontan zu Tode gekommenen Tiere nicht histologisch untersucht wurden. Auch in diesen morphologisch stark veränderten Lebern trifft man die für Halothan bezeichnende Verfettung (Abb. 20). Die Magenveränderungen sind mit der durch DÄNA 14 mg/kg allein hervorgerufenen Hyperkeratose identisch.

Die Milzhyperplasie bleibt ungeklärt.

Nierenschädigungen treten nie auf.

VI Literatur

- 1) Conney, A.H., Gillette, J.R., Inskoe, J.K., Trams, E.R., Posner, H.S., *Science* 130, 1478 (1958)
- 2) Hoops, A., Zur Frage der Leberbelastung durch Pharmaka, Med. Inaugural-Dissertation, Marburg (1963)
- 3) Kunz, W., Schaudé, G., Schmid, W., Siess, M., Naunyn - Schmiedebergs Archiv, im Druck
- 4) Magee, P.N., Barnes, J.M., *Brit. J. canc.* 10, 114 (1956)
- 5) Magus Mc., J.F.A., *Nature (London)* 158, 202 (1946)
- 6) Niessing, J., Schaudé, G., Siess, M., Vogell, W., Naunyn-Schmiedebergs Arch., im Druck
- 7) Preis, Chr., Schaudé, G., Siess, M., Naunyn-Schmiedebergs Arch., im Druck
- 8) Preis, Chr., Histometrische Untersuchungen über die phamakologisch induzierte Lebervergrößerung der weißen Maus Med. Inaugural - Dissertation, Marburg (1964)
- 9) Räker, K.O., Die Beeinflussung des Leberwachstums bei länger dauernder Applikation lipoidlöslicher Pharmaka, Med. Inaugural - Dissertation, Marburg (1965)
- 10) Remmer, H., Merker, H.J., Naunyn - Schmiedebergs Arch., exp. Path. Pharmakolog. 245, 76 (1963)
- 11) Romeis, B., Mikroskop, Technik, Fettfärbung, Scharlachrot, § 1046 u. ff.
- 12) Schmährl, D., Preussmann, R., Hamperl, H., *Naturwissenschaften* 46, 175 (1959)
- 13) Schmährl, D., Preussmann, R., Hamperl, H., *Naturwissenschaften* 46, 89 (1960)
- 14) Siess, M., Stegmann, H., Nr. 4 *Virchows Arch.* 318, 534-574 (1950)
- 15) Siess, M., Schmidt, B., Oehmig, H., Kirchner, E., *Brun's Beiträge zur klin. Chirurgie*, Bd. 206, H 4 (1963)
- 16) Thal, H., Veränderungen der Leber nach chronischer Einwirkung von Fremdstoffen bei der weißen Maus, Med. Inaugural - Dissertation, Marburg (1965)
- 17) Thomas, C., *Zeitschrift für Krebsforschung* 64, 224-233 (1961)
- 18) Thomas, C., Schmährl, D., *Zeitschrift für Krebsforschung* 65 531-536 (1963)

Tabelle 1

Substanz	Behandlungs- dauer Monate	n	Körper- gewicht g	$\bar{\sigma}_m$	abs. Leber- gewicht mg	$\bar{\sigma}_m$	rel. Leber- gewicht mg/g	$\bar{\sigma}_m$
Kontrollen	6	12	44,9	$\pm 1,4$	2197	$\pm 26,4$	48,9	$\pm 1,4$
	8	12	40,6	$\pm 1,2$	1892,5	$\pm 63,0$	46,7	$\pm 1,4$
Phenobarbital/Barb. 150 mg/kg	6	5	39,4	$\pm 1,0$	2898	$\pm 158,2$	73,3	$\pm 2,4$
	8	7	37,2	$\pm 1,1$	2391,4	$\pm 82,2$	66,3	$\pm 2,0$
Phenobarbital/Barb. 300 mg/kg								
	8	10	39,6	$\pm 1,7$	2619	$\pm 78,5$	67,3	$\pm 4,0$
Diäthylnitrosamin 14 mg/kg	6	7	25,8	$\pm 2,2$	1501	± 119	58,6	$\pm 2,1$
Diäthylnitrosamin 2 mg/kg	6	5	42,9	$\pm 1,0$	2350	$\pm 145,1$	54,7	$\pm 2,7$
	8	11	39,2	$\pm 0,9$	1815,4	$\pm 80,4$	46,3	$\pm 1,8$
Halothan 0,5%	6	5	44,2	$\pm 1,5$	2724	$\pm 153,2$	62,3	$\pm 5,3$
	8 1/2	11	36,3	$\pm 1,3$	2701,6	$\pm 123,1$	74,3	$\pm 2,2$
Phenobarbital/Barb. 75 mg/kg + Diäthylnitrosamin 7 mg/kg								
	8	2	33,8	$\pm 2,9$	1665	± 175	49,2	$\pm 1,0$
Phenobarbital/Barb. 75 mg/kg + Diäthylnitrosamin 1 mg/kg								
	8	10	39,5	$\pm 1,4$	2167	$\pm 148,9$	54,6	$\pm 2,6$
Phenobarbital 150 mg/kg + Diäthylnitrosamin 14 mg/kg	3	6	30,8	$\pm 2,6$	1965	$\pm 151,4$	64,2	$\pm 2,0$
	6	4	28,5	$\pm 2,2$	1725	$\pm 230,0$	59,6	$\pm 3,8$
Phenobarbital 150 mg/kg + Diäthylnitrosamin 2 mg/kg	3	6	36,4	$\pm 1,5$	2371,7	$\pm 122,4$	65,4	$\pm 2,9$
	6	4	38,9	$\pm 0,9$	2380,0	$\pm 221,0$	60,9	$\pm 4,5$
Phenobarbital/Barb. 150 mg/kg + Halothan 0,5%	6	5	38,3	$\pm 1,7$	4094	$\pm 196,9$	106,9	$\pm 2,3$
	8 1/2	9	36,9	$\pm 1,3$	2819,1	$\pm 132,3$	75,6	$\pm 2,0$
Diäthylnitrosamin 14 mg/kg + Halothan 0,5%	6	9	23,5	$\pm 2,0$	1833	$\pm 230,1$	76,7	$\pm 5,0$
	8	4	23,1	$\pm 1,9$	2100	$\pm 217,3$	90,6	$\pm 3,6$
Diäthylnitrosamin 2 mg/kg + Halothan 0,5%	6	6	38,2	$\pm 1,5$	2668	$\pm 152,9$	69,8	$\pm 2,9$
	8 1/2	12	39,4	$\pm 1,0$	2550	$\pm 118,1$	65,0	$\pm 2,0$

T a b e l l e 2

Substanz	Behandl.Dauer Monate	abs.Leb.Gew. mg	* I %	Substanz	Behandl.Dauer Monate	abs.Leb.Gew.	* I %
Kontrollen	Anfangsgewicht 6 8	1050 2197 1892,5	109 80	Phenobarbital/Bar. 75 mg/kg + Diäthylnitrosamin 7 mg/kg	Anfangsgewicht 8	1095 1665	52
Phenobarbital/Bar. 150 mg/kg	A. 6 8	1000 2898 2391,4	190 139	Phenobarbital/Bar. 75 mg/kg + Diäthylnitrosamin 1 mg/kg	A. 8	1175 2167	84
Phenobarbital/Bar. 300 mg/kg	A. 8	1025 2619	156	Phenobarbital/ 150 mg/kg + Diäthylnitrosamin 14 mg/kg	A. 3 6	1070 1965 1725	84 61
Diäthylnitrosamin 14 mg/kg	A. 6	1045 1501	44	Phenobarbital 150 mg/kg + Diäthylnitrosamin 2 mg/kg	A. 3 6	1100 2371,7 2380	116 116
Diäthylnitrosamin 2 mg/kg	A. 6 8	1075 2350 1815,4	119 69	Phenobarbital/Bar. 150 mg/kg + Halothan 0,5%	A. 6 8 1/2	1170 4094 2819,1	250 141
Halothan 0,5%	A. 6 8 1/2	1025 2724 2701,6	166 164	Diäthylnitrosamin 14 mg/kg + Halothan 0,5%	A. 6 8	1225 1833 2100	50 71
				Diäthylnitrosamin 2 mg/kg + Halothan 0,5%	A. 6 8 1/2	1225 2668 2550	118 108

Verhalten des absoluten Lebergewichts nach 3, 6, 8 u. 8 1/2 Monaten Behandlungsdauer
 * I = prozentualer Unterschied zum Ausgangswert von 1100 mg

T a b e l l e 3

Substanz	Behandl. Dauer Monate	rel. Leb. gew. mg/ g	* I %	Substanz	Behandl. Dauer Monate	rel. Leb. gew. mg/kg	* I %
Kontrollen	Anfangsgewicht 6 8	50,0 48,9 46,7	-2 -7	Phenobarbital/Barb. 75 mg/kg + Diäthylnitrosamin 1 mg/kg	Anfangsgewicht 8	50,0 54,6	+9
Phenobarbital/Barb. 150 mg/kg	A. 6 8	50,0 73,3, 66,3	+47 +33	Phenobarbital 150 mg/kg + Diäthylnitrosamin 14 mg/kg	A. 3 6	50,0 64,2 59,6	+28 +20
Phenobarbital/Barb. 300 mg/kg	A. 8	50,0 67,3	+35	Phenobarbital 150 mg/kg + Diäthylnitrosamin 2 mg/kg	A. 3 6	50,0 65,4 60,9	+31 +22
Diäthylnitrosamin 14 mg/kg	A. 6	50,0 58,6	+17	Phenobarbital/Barb. 150 mg/kg + Halothan 0,5%	A. 6 8 1/2	50,0 106,9 75,6	+114 +52
Diäthylnitrosamin 2 mg/kg	A. 6 8	50,0 54,7 46,3	+9 -7	Diäthylnitrosamin 14 mg/kg + Halothan 0,5%	A. 6 8	50,0 76,7 90,6	+53 +81
Halothan 0,5%	A. 6 8 1/2	50,0 62,3 74,3	+25 +49	Diäthylnitrosamin 2 mg/kg + Halothan 0,5%	A. 6 8 1/2	50,0 69,8 65,0	+40 +30
Phenobarbital/Barb. 75 mg/kg + Diäthylnitrosamin 7 mg/kg	A. 8	50,0 49,2	-2				

Verhalten des relativen Lebergewichts nach 3, 6, 8 u. 8 1/2 Monaten Behandlungsdauer
 * I = prozentualer Unterschied zum Ausgangswert von 50 mg/ g

Tabelle 4

Anzahl der Tiere		%uale Sterblichkeit bis 6 Monate	Anzahl der Tiere			%uale Sterblichkeit zwischen 6 und 8 Monaten	seit Ver- suchs- beginn %
bei Ver- suchs- beginn	getötet *	histolo- gisch ausge- wertet	ab 6 Monate	ab 6 Monate getötet *	ab 6 Mon. histolo- gisch ausge- wertet		
Kontrollen	45	6	6	33	12	43	31
Phenobarbital/Barb. 150 mg/kg	30	5	4	9	7	22	60
Phenobarbital/Barb. 300 mg/kg	14				10		29
DANA 14 mg/kg	15	7	6	7			
DANA 2 mg/kg	30	5	5	23	13	43	40
Haloethan 0,5%	30	7	5	23	16	30	23
Phenobarbital/Barb. 75 mg/kg+ DANA 7 mg/kg	12				2		80
Phenobarbital/Barb. 75 mg/kg+ DANA 1 mg/kg	30				10		64
Phenobarbital/Barb. 150 mg/kg+ DANA 14 mg/kg	15	4	4				
Phenobarbital/Barb. 150 mg/kg+ DANA 2 mg/kg	15	4	4				
Phenobarbital/Barb. 150 mg/kg+ Haloethan 0,5%	30	5	5	17	9	47	53
DANA 14 mg/kg+ Haloethan 0,5%	30	9	9	13	4	70	57
DANA 2 mg/kg+ Haloethan 0,5%	30	8	6	21	12	43	33

* von den getöteten Tieren wurde ein Teil für biochemische Untersuchungen herangezogen.

T a b e l l e 3

Substanz	Behandl. Dauer Monate	rel. Leb. Gew. mg/ g	* I %	Substanz	Behandl. Dauer Monate	rel. Leb. Gew. mg/kg	* I %
Kontrollen	Anfangsgewicht 6 8	50,0 48,9 46,7	-2 -7	Phenobarbital/Barb. 75 mg/kg + Diäthylnitrosamin 1 mg/kg	Anfangsgewicht 8	50,0 54,6	+9
Phenobarbital/Barb. 150 mg/kg	A. 6 8	50,0 73,3, 66,3	+47 +33	Phenobarbital 150 mg/kg + Diäthylnitrosamin 14 mg/kg	A. 3 6	50,0 64,2 59,6	+28 +20
Phenobarbital/Barb. 300 mg/kg	A. 8	50,0 67,3	+35	Phenobarbital 150 mg/kg + Diäthylnitrosamin 2 mg/kg	A. 3 6	50,0 65,4 60,9	+31 +22
Diäthylnitrosamin 14 mg/kg	A. 6	50,0 58,6	+17	Phenobarbital/Barb. 150 mg/kg + Halothan 0,5%	A. 6 8 1/2	50,0 106,9 75,6	+114 +52
Diäthylnitrosamin 2 mg/kg	A. 6 8	50,0 54,7 46,3	+9 -7	Diäthylnitrosamin 14 mg/kg + Halothan 0,5%	A. 6 8	50,0 76,7 90,6	+53 +51
Halothan 0,5%	A. 6 8 1/2	50,0 62,3 74,3	+25 +49	Diäthylnitrosamin 2 mg/kg + Halothan 0,5%	A. 6 8 1/2	50,0 69,8 65,0	+40 +30
Phenobarbital/Barb. 75 mg/kg + Diäthylnitrosamin 7 mg/kg	A. 8	50,0 49,2	-2				

Verhalten des relativen Lebergewichts nach 3, 6, 8 u. 8 1/2 Monaten Behandlungsdauer
 * I = prozentualer Unterschied zum Ausgangswert von 50 mg/ g

Tabelle 4

	Anzahl der Tiere		%uale Sterblichkeit bis 6 Monate	Anzahl der Tiere			%uale Sterblichkeit zwischen 6 und 8 Monaten	seit Ver- suchs- beginn %
	bei Ver- suchs- beginn	getötet *	histolo- gisch ausge- wertet	ab 6 Monate	ab 6 Monate getötet *	ab 6 Mon. histolo- gisch ausge- wertet		
Kontrollen	45	6	6	33	12	12	43	31
Phenobarbital/Barb. 150 mg/kg	30	5	4	9	7	7	22	60
Phenobarbital/Barb. 300 mg/kg	14				10	10		29
DANA 14 mg/kg	15	7	6	7				
DANA 2 mg/kg	30	5	5	23	13	11	43	40
Haloethan o, 5%	30	7	5	23	16	11	30	23
Phenobarbital/Barb. 75 mg/kg + DANA 7 mg/kg	12				2	2		80
Phenobarbital/Barb. 75 mg/kg + DANA 1 mg/kg	30				10	10		64
Phenobarbital/Barb. 150 mg/kg + DANA 14 mg/kg	15	4	4					
Phenobarbital/Barb. 150 mg/kg + DANA 2 mg/kg	15	4	4					
Phenobarbital/Barb. 150 mg/kg + Haloethan o, 5%	30	5	5	17	9	9	47	53
DANA 14 mg/kg + Haloethan o, 5%	30	9	9	13	4	4	70	57
DANA 2 mg/kg + Haloethan o, 5%	30	8	6	21	12	12	43	33

* von den getöteten Tieren wurde ein Teil für biochemische Untersuchungen herangezogen.

T a b e l l e 5

Substanz und Dosierung pro die	Histologische Veränderungen	n	3 Monate % (n)	n	6 Monate % (n)	n	8 Monate % (n)
Kontrollen	keine	6		6		12	
Phenobarbital/Barbital 150 mg/kg *	toxische Leberschädigung schwere toxische Leberschädigung			4	25 (1)	7	28 (2) 14 (1)
Phenobarbital/Barbital 300 mg/kg *	toxische Leberschädigung					10	40 (4)
DÄNA 14 mg/kg	Lebercirrhose maligne Lebertumoren starke Vormagenhyperkeratose			6	100 (6) 50 (3) 100 (6)		
DÄNA 2 mg/kg	leichte toxische Leberschädigung toxische Leberschädigung leichte Vormagenhyperkeratose			5	20 (1) 100 (5)	11	9 (1) 100 (11)
Halothan 0,5%	toxische Leberschädigung schwere toxische Leberschädigung			5	100 (5)	11	90 (9) 10 (1)
Phenobarbital/Barbital 75 mg/kg + DÄNA 7 mg/kg *	toxische Leberschädigung maligne Lebertumoren					2	100 (2) 100 (2)
Phenobarbital/Barbital 75 mg/kg + DÄNA 1 mg/kg *	toxische Leberschädigung schwere toxische Leberschädigung Hepatome					10	10 (1) 10 (1) 10 (1)
Phenobarbital 150 mg/kg + DÄNA 14 mg/kg	leichte toxische Leberschädigung beginnende Lebercirrhose ausgeprägte Lebercirrhose maligne Lebertumoren ausgeprägte Vormagenhyperkeratose Vormagencarcinome	6	0	4	25 (1) 25 (1) 25 (1) 25 (1) 25 (1) 75 (3)		
Phenobarbital 150 mg/kg + DÄNA 2 mg/kg	leichte toxische Leberschädigung toxische Leberschädigung leichte Vormagenhyperkeratose ausgeprägte Vormagenhyperkeratose	6	17 (1)	4	100 (4) 50 (2) 50 (2)		
Phenobarbital/Barbital 150 mg/kg + Halothan 0,5%	toxische Leberschädigung			5	100 (5)	9	100 (9)
DÄNA 14 mg/kg + Halothan 0,5%	ausgeprägte Lebercirrhose Hepatome maligne Lebertumoren ausgeprägte Magenhyperkeratose extrahepatische maligne Tumoren			9	100 (9) 11 (1) 11 (1) 100 (9) 22 (2)	4	100 (4) 75 (3) 75 (3) 100 (4)
DÄNA 2 mg/kg + Halothan 0,5%	toxische Leberschädigung beginnende Lebercirrhose Hepatome extrahepatische benigne Tumoren extrahepatische maligne Tumoren leichte Vormagenhyperkeratose			6	100 (6) 17 (1) 100 (6)	12	100 (12) 17 (2) 41 (3) 8 (1) 100 (12)

* Magen nicht histologisch untersucht.

Prozentualer Anteil der histologisch nachweisbaren Organveränderungen
nach chronischer Fremdstoffeinwirkung.

Tabelle 6

Substanz	Dosis mg/kg tgl.	Gesamtzahl der unter- suchten Tiere	Tiere mit Tumoren	davon		
				Lebertumoren	extrahepatische Tumoren	
				benigne	maligne	benigne
Kontrollen		24	-			maligne
Phenobarbital/Barbital	150	11	-			
Phenobarbital/Barbital	300	10	-			
DÄNA	14	6	3		3	
DÄNA	2	16	-			
Halothan 1 Std.	0,5%	16	-			
Phenobarbital/Barbital + DÄNA	75 7	2	2		2	
Phenobarbital/Barbital + DÄNA	75 1	10	1	1		
Phenobarbital + DÄNA	150 14	4	3		1	3
Phenobarbital + DÄNA	150 2	10	-			
Phenobarbital/Barbital + Halothan 1 Std.	150 0,5%	14	-			
DÄNA + Halothan 1 Std.	14 0,5%	13	8	4	4	2
DÄNA + Halothan 1 Std.	2 0,5%	18	7	5		1

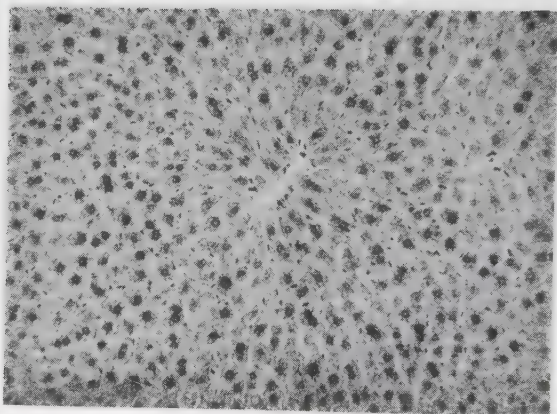
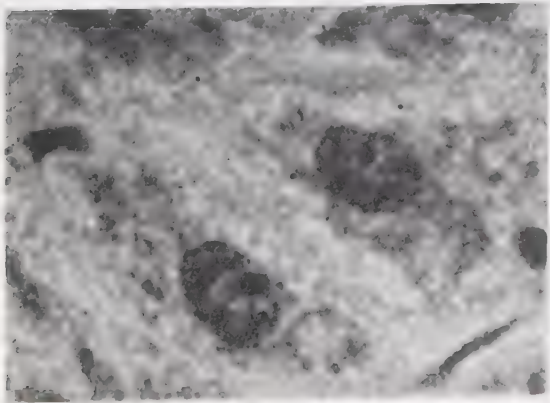
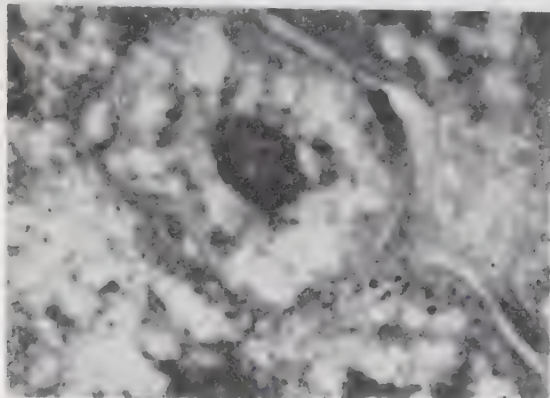


Abb. 1: Normale Leber der Maus.
HE-Färbung
Vergrößerung 1:217

a)



b)



c)

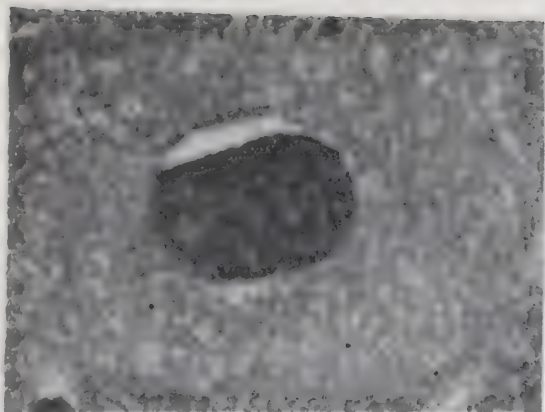


Abb. 2: Leberzellgrößenvergleich (aus der Intermediärzone des Hepatons) nach 8-monatiger Einwirkungs- bzw. Beobachtungsdauer bei

a) Kontrolle (HE-Färbung)

b) Phenobarbital/Barbital 150 mg/kg (HE-Färbung)

c) Halothan 0,5 % (PAS-Reaktion)

Vergrößerung bei allen 3 Aufnahmen 1 : 2080

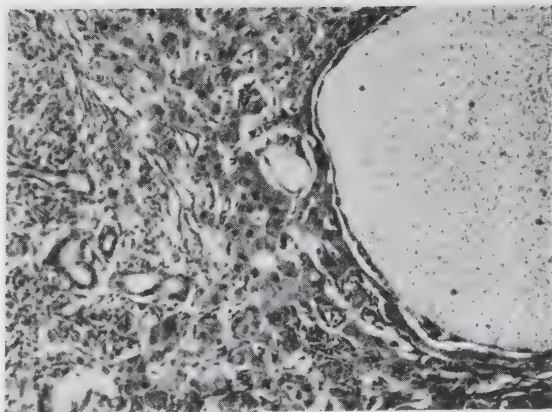


Abb. 3: DÄNA 14 mg/kg + Halothan 0,5 % nach 8 Monaten
Einwirkungsdauer.
Leber: Cirrhotische Veränderung mit Pseudo-
gallengängen (li.) und Blutcyste (re.).
HE-Färbung
Vergrößerung 1 : 217

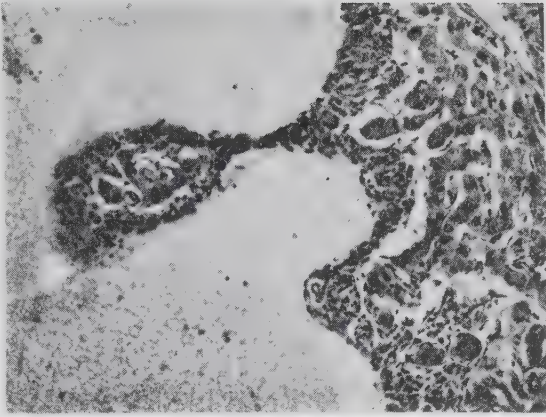


Abb. 4: DÄNA 14 mg/kg + Halothan 0,5 % nach 8 Monaten
Einwirkungsdauer.
Leber: Hämangioendotheliom mit Epithelknötchen.
HE-Färbung
Vergrößerung 1 : 217

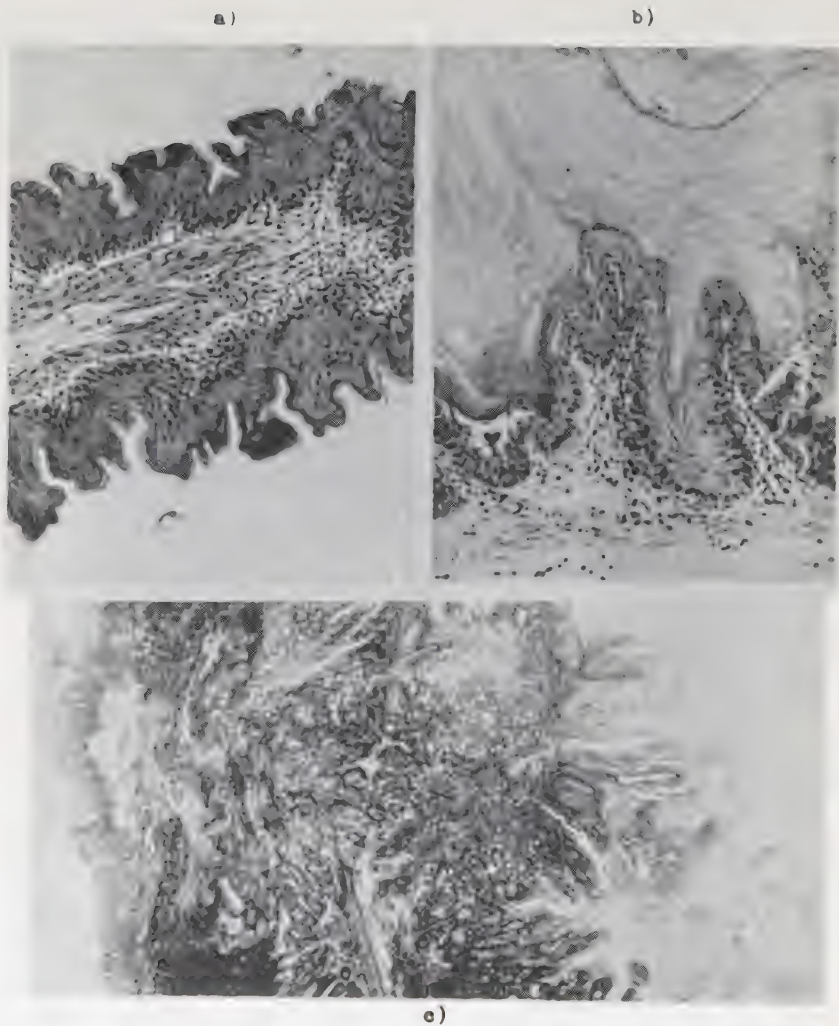


Abb. 5 a) Normale Vormagenschleimhaut.

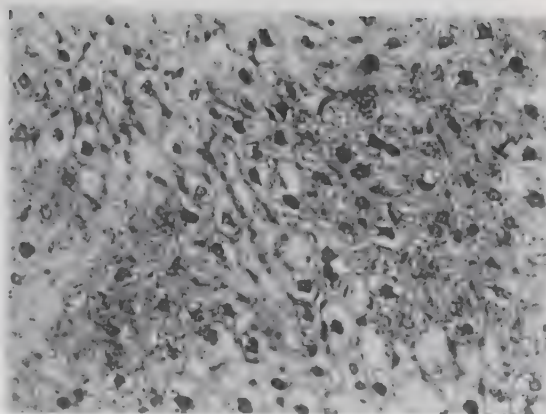
b) DÄNA 14 mg/kg + Halothan 0,5 % nach 6 Monaten Einwirkungs-
dauer. Ausgeprägte Hyperkeratose des Vormagens.

Bei beiden Aufnahmen HE-Färbung. Vergrößerung 1 : 217.

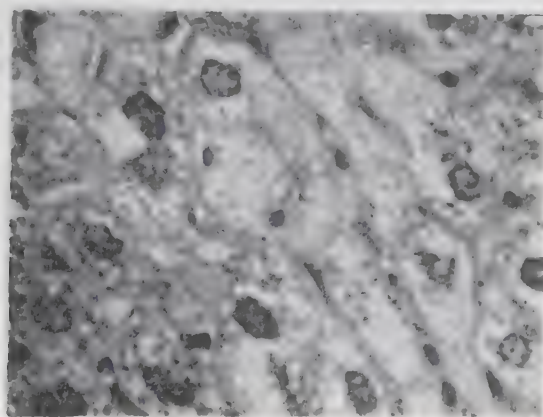
c) Phenobarbital 150 mg/kg + DÄNA 14 mg/kg nach 6 Monaten
Einwirkungsdauer.

Verhornendes Plattenepithelcarcinom des Vormagens.

HE-Färbung. Vergrößerung 1 : 100.



a)



b)

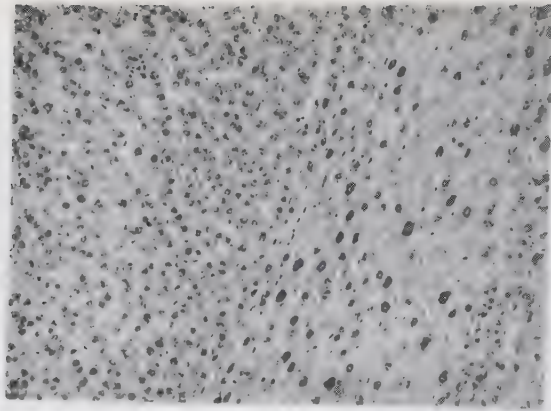
Abb. 6: Halothan 0,5 % nach 8-monatiger Einwirkungsdauer

a) Leber: Zell- und Kernpolymorphie, Zellhypertrophie, Fettvakuolen.

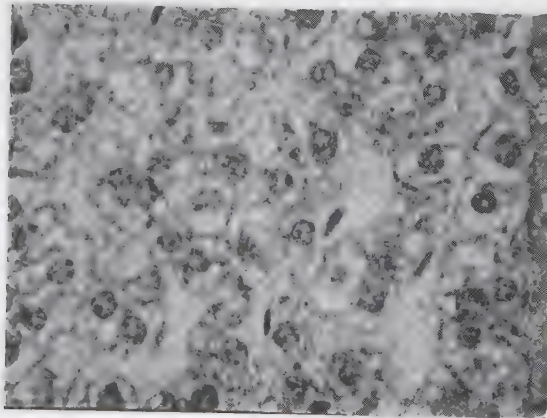
PAS-Reaktion

Vergrößerung 1 : 217

b) Leber: wie (a) bei Vergrößerung 1 : 878



a)



b)

Abb. 7: DÄNA 2 mg/kg + Halothan 0,5 % nach 8 Monaten
Einwirkungsdauer.

Leber: a) Hepatom (li.), toxisch geschädigte
Leber (re.)

HE-Färbung

Vergrößerung 1 : 217

b) Zellverband mit Hepatom.

HE-Färbung

Vergrößerung 1 : 878

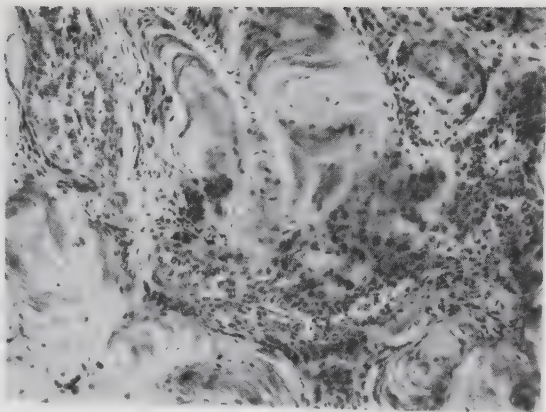


Abb. 8: DÄNA 14 mg/kg + Halothan 0,5 % nach 6 Monaten
Einwirkungsdauer.

Lunge: Verhornendes Plattenepithelcarcinom.

HE-Färbung

Vergrößerung 1 : 217

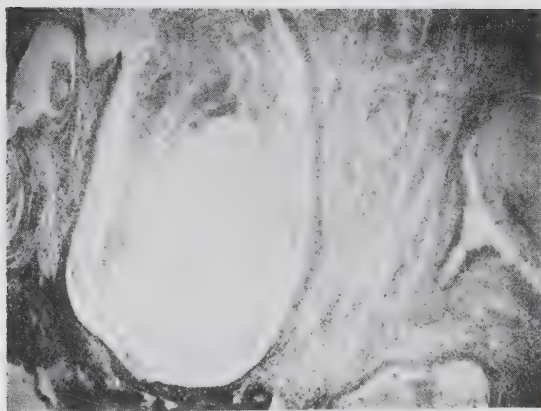


Abb. 9: DÄNA 14 mg/kg + Halothan 0,5 % nach 6 Monaten
Einwirkungsdauer.

Parotis: Verhornendes Plattenepithelcarcinom.

HE-Färbung

Vergrößerung 1 : 83

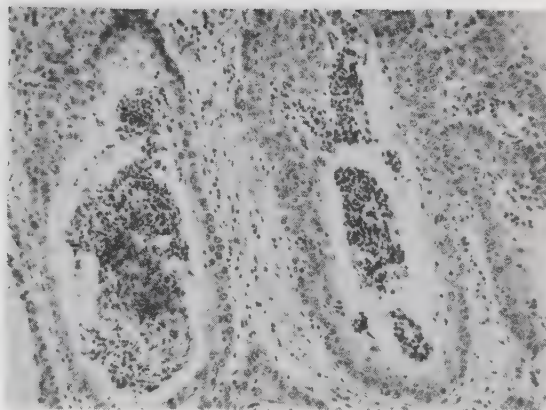


Abb. 10: DÄNA 2 mg/kg + Halothan 0,5 % nach 6 Monaten
Einwirkungsdauer.

Unterkieferspeicheldrüse: leicht verhornendes .
Plattenepithelcarcinom.

HE-Färbung

Vergrößerung 1 : 217

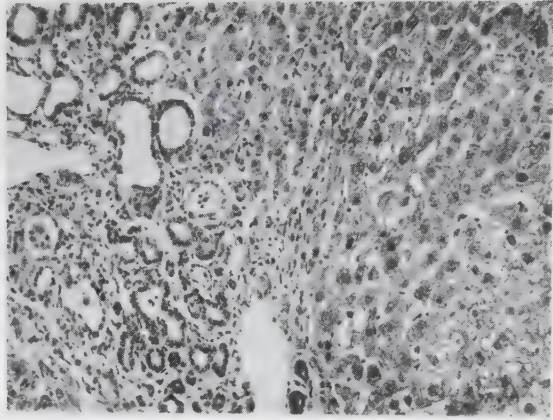


Abb. 11: DÄNA 14 mg/kg + Halothan 0,5 % nach 6 Monaten
Einwirkungsdauer.

Leber: Normaler Läppchenaufbau aufgehoben,
ausgeprägte Pseudogallengangswucherungen(Cirrhose)
HE-Färbung

Vergrößerung 1 - 217

Zeichenerklärung

Kontrollen

Phenobarbital/Barbital	150 mg/kg	— — — — —
Phenobarbital/Barbital	300 mg/kg	— — — — —
Diäthylnitrosamin	14 mg/kg	• • • • •
Diäthylnitrosamin	2 mg/kg	
Halothan	0,5 %	— — — — —
Phenobarbital/Barbital	75 mg/kg	— • — • — • —
Diäthylnitrosamin	7 mg/kg	— • — • — • —
Phenobarbital/Barbital	75 mg/kg	— • — • — • —
Diäthylnitrosamin	1 mg/kg	— • — • — • —
Phenobarbital	150 mg/kg	— • • — • • — •
Diäthylnitrosamin	14 mg/kg	— • • — • • — •
Phenobarbital	150 mg/kg	— • • — • • — •
Diäthylnitrosamin	2 mg/kg	— • • — • • — •
Phenobarbital/Barbital	150 mg/kg	— — — — —
Halothan	0,5 %	— — — — —
Diäthylnitrosamin	14 mg/kg	— • — • — • —
Halothan	0,5 %	— • — • — • —
Diäthylnitrosamin	2 mg/kg	— • — • — • —
Halothan	0,5 %	— • — • — • —

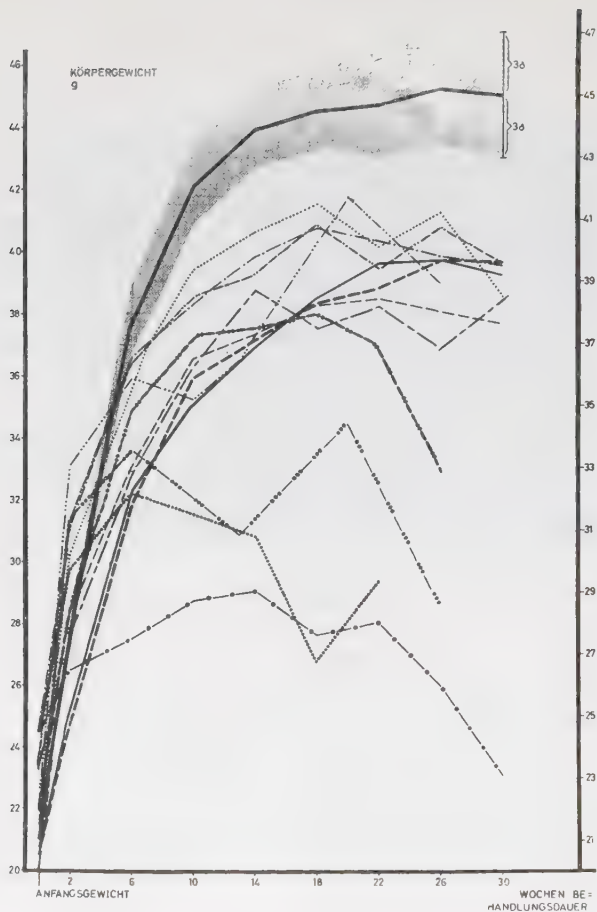


Abb. 12: Körperwachstumsverlauf bei
chronischer Fremdstoffeinwirkung.

In dieser und den folgenden Abbildungen sind alle Werte außerhalb des 3-Sigma-Bereiches der Kontrollen signifikant, abgesehen von wenigen Werten, bei welchen die Anzahl n weniger als 6 beträgt.

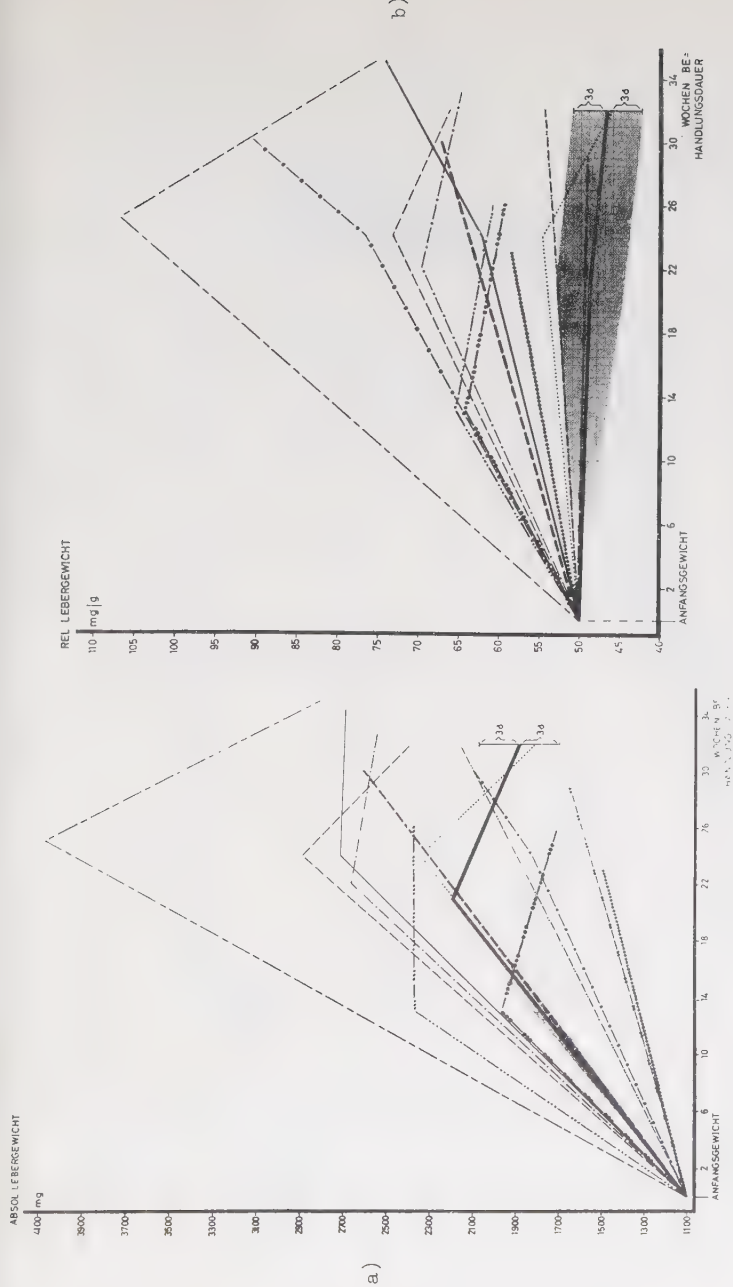


Abb. 13: Leberwachstum bei chronischer Fremdstoffeinwirkung

a) absolutes Lebergewicht

b) relatives Lebergewicht

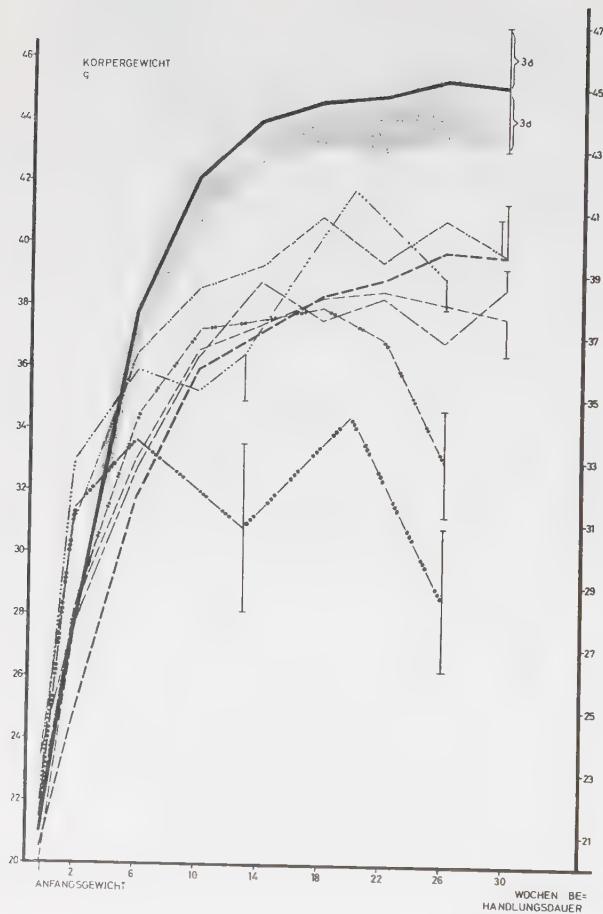


Abb. 14:

Beeinflussung des Körperwachstums durch chronische Behandlung mit Phenobarbital/Barbital 150 mg/kg bzw. 300 mg/kg; mit Phenobarbital/Barbital 75 mg/kg und DÄNA 7 mg/kg bzw. 1 mg/kg; mit Phenobarbital 150 mg/kg und DÄNA 14 mg/kg bzw. 2 mg/kg; mit Phenobarbital/Barbital 150 mg/kg und Halothan.

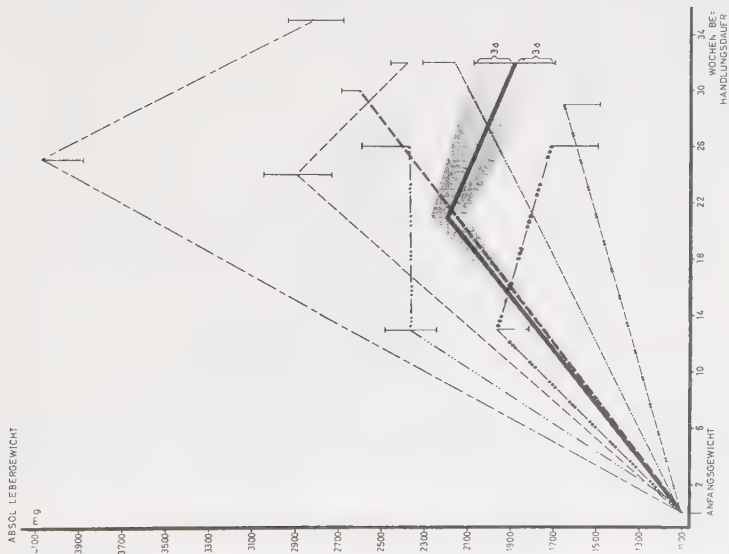
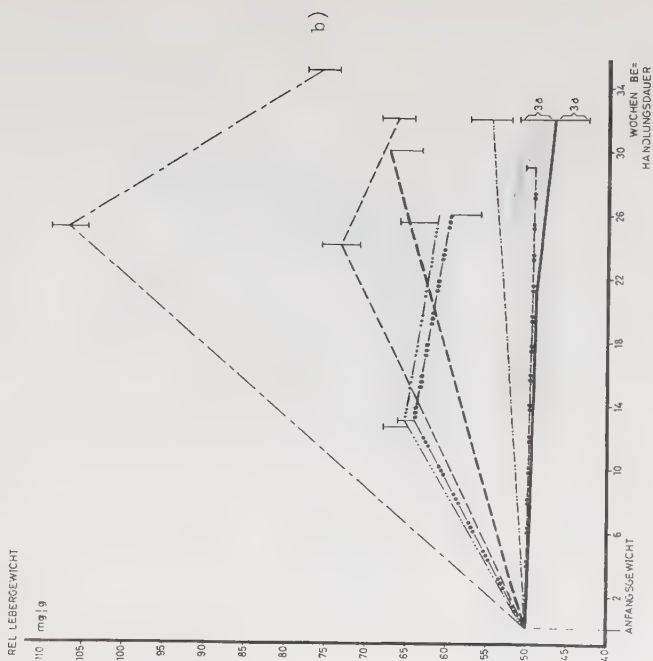


Abb. 15:

Beeinflussung des Lebergewichts durch chronische Einwirkung von Phenobarbital/Barbital 150 mg/kg bzw. 300 mg/kg, von Phenobarbital/Barbital 75 mg/kg mit DANA 7 mg/kg bzw. 1 mg/kg, von Phenobarbital 150 mg/kg mit DANA 14 mg/kg bzw. 2 mg/kg und von Phenobarbital/Barbital 150 mg/kg mit Halothan.

- a) absolutes Lebergewicht
b) relatives Lebergewicht



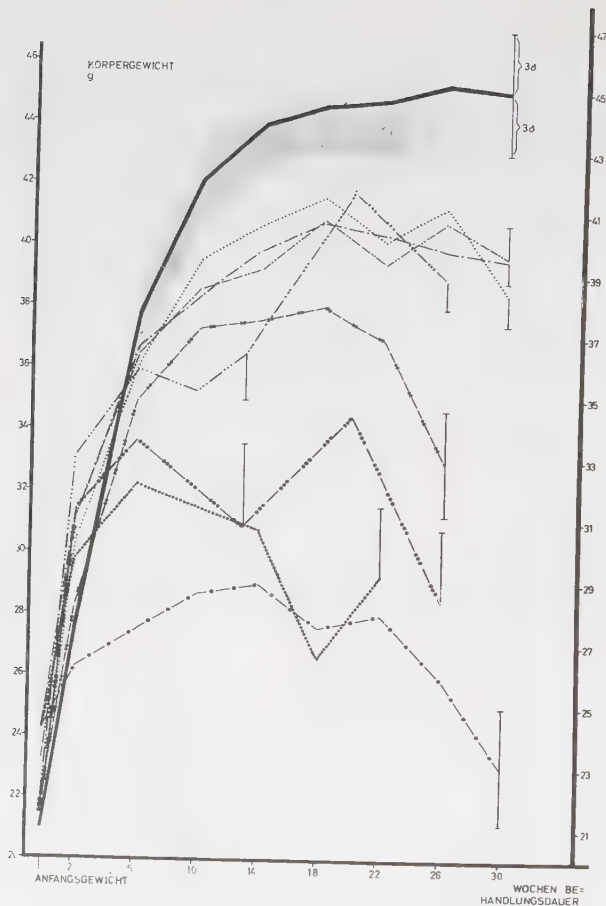
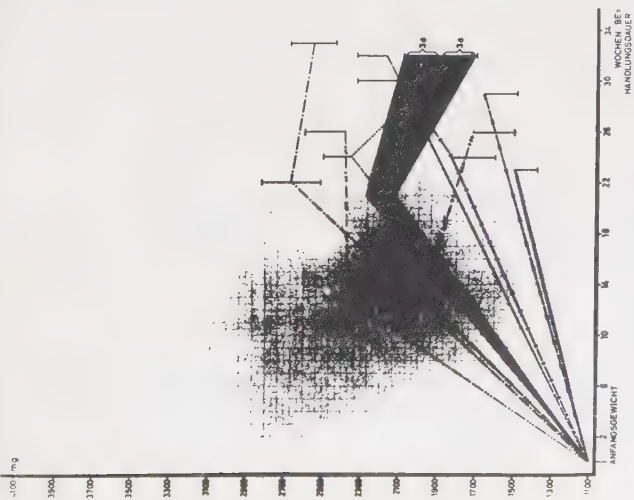
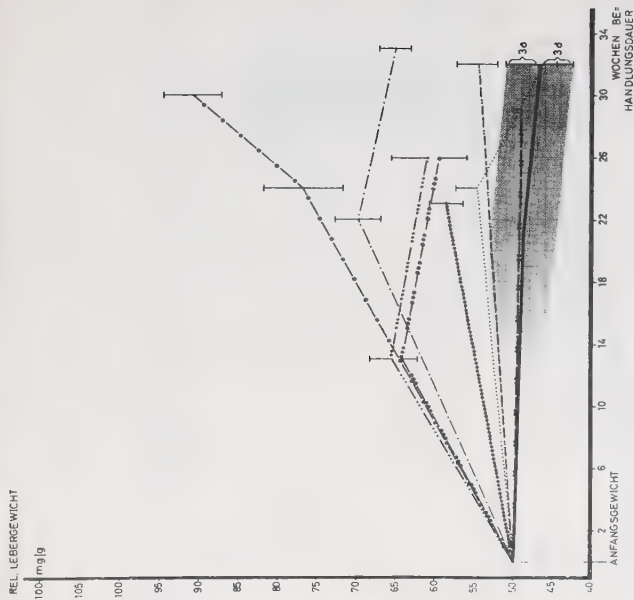


Abb. 16:

Beeinflussung des Körperwachstums durch chronische Behandlung mit DÄNA 14 mg/kg bzw. 2 mg/kg; mit DÄNA 7 mg/kg bzw. 1 mg/kg und Phenobarbital/Barbital 75 mg/kg; mit DÄNA 14 mg/kg bzw. 2 mg/kg und Phenobarbital 150 mg/kg; mit DÄNA 14 mg/kg bzw. 2 mg/kg und Halothan.



a)



b)

Abb. 17:

Beeinflussung des Lebergewichts durch chronische Einwirkung von DANA 14 mg/kg bzw. 2 mg/kg; von DANA 7 mg/kg bzw. 1 mg/kg mit Phenobarbital/Barbital 75 mg/kg; von DANA 14 mg/kg bzw. 2 mg/kg mit Phenobarbital 150 mg/kg und von DANA 14 mg/kg bzw. 2 mg/kg mit Halothan.

a) absolutes Lebergewicht

b) relatives Lebergewicht

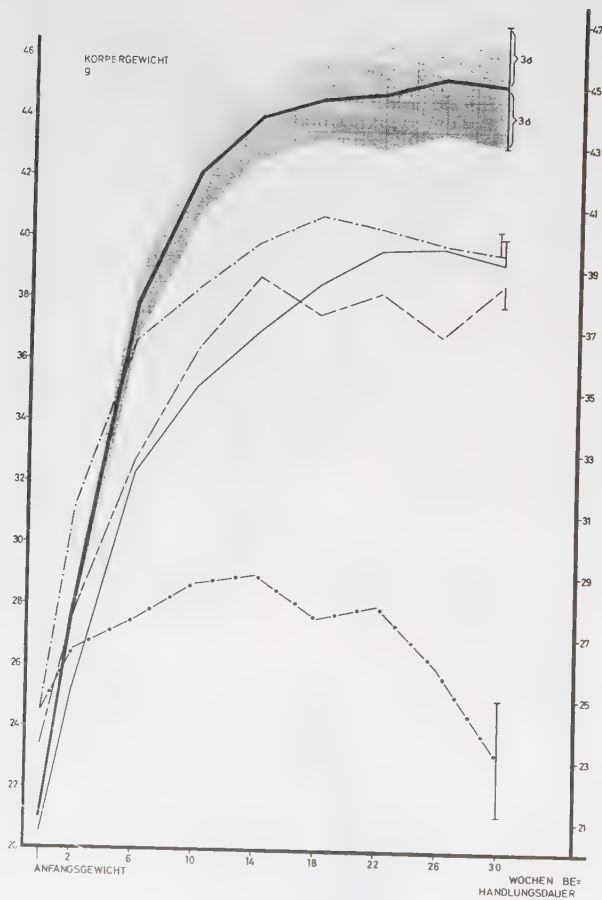


Abb. 18:

Beeinflussung des Körperwachstums durch chronische Behandlung mit Halothan, Halothan und Phenobarbital/Barbital 150 mg/kg, Halothan und DANA 14 mg/kg bzw. 2 mg/kg.

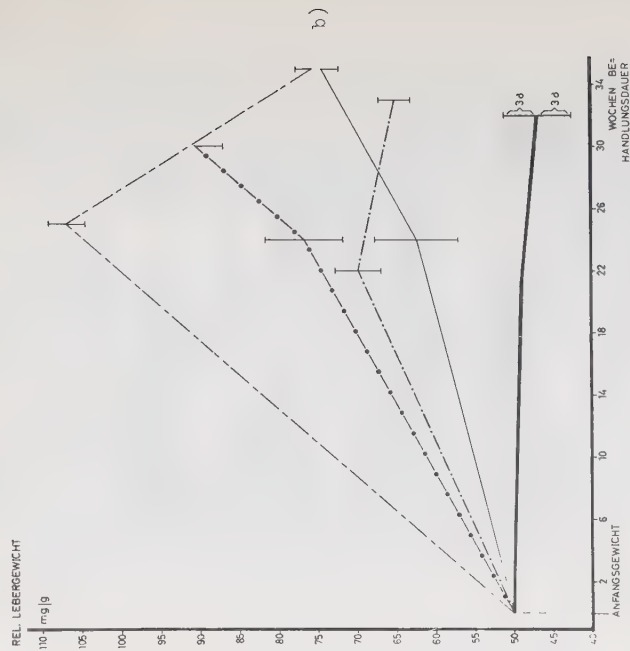
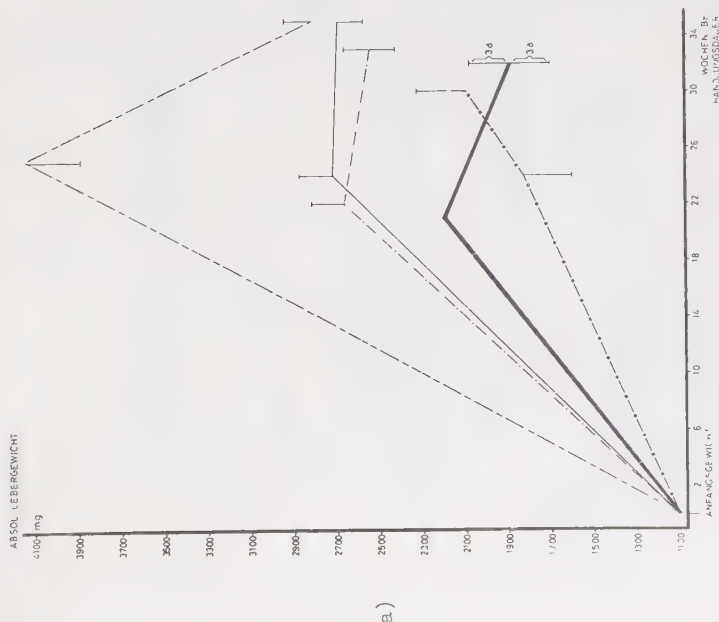


Abb. 19: Beeinflussung des Lebergewichts durch chronische Einwirkung von Halothan, Halothan mit Phenobarbital/Barbital 150 mg/kg, mit DANA 14 mg/kg und mit DANA 2 mg/kg.

- a) absolutes Lebergewicht
- b) relatives Lebergewicht

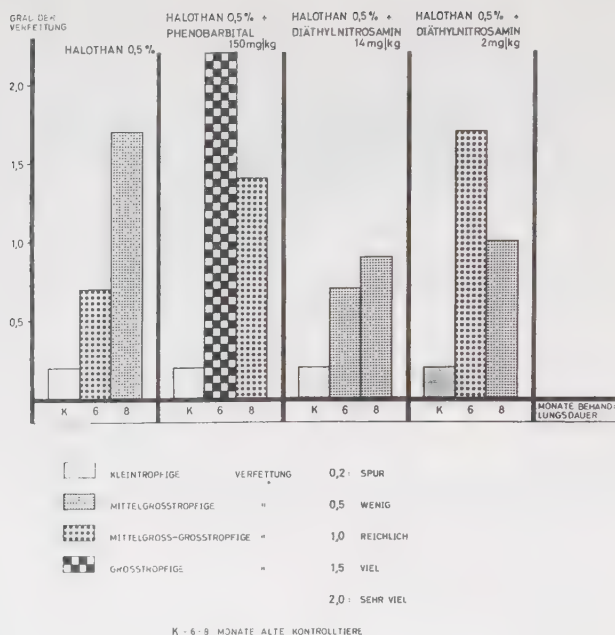


Abb. 20:

Grad der histologisch feststellbaren
 Leberverfettung und chronischer Einwirkung
 von Halothan, Halothan und Phenobarbital,
 Halothan und DÄNA 14 mg/kg und
 Halothan und DÄNA 2 mg/kg.

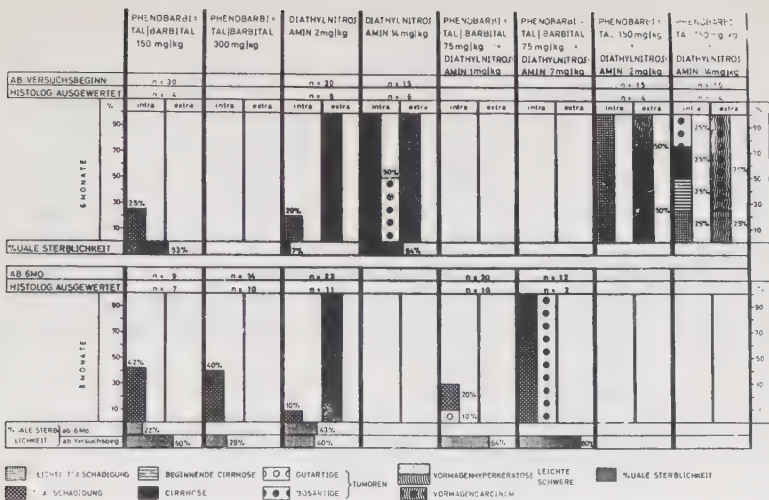


Abb. 21: Histologische Veränderungen nach chronischer Behandlung mit Phenobarbital/Barbital und DÄNA

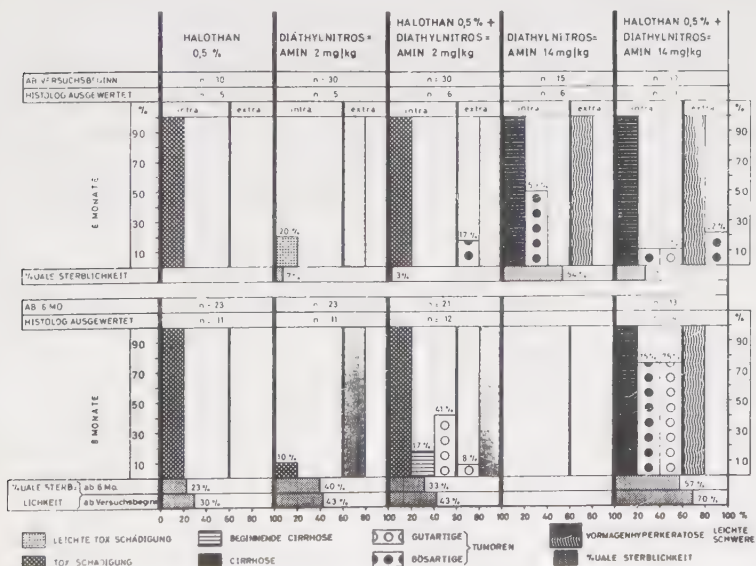


Abb. 22: Histologische Veränderungen nach chronischer Behandlung mit Halothan und DÄNA.

intra.= intrahepatisch, extra.=extrahepatisch

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. W. Schmid,
danke ich für die Überlassung des Themas und die
freundliche Hilfe bei der Arbeit.

Auch Frau Dr. G. Schaudé möchte ich für die
Anleitungen danken.

Herrn Prof. Dr. Dr. H. Heuser danke ich für die
Übernahme des Correferats.

L e b e n s l a u f

Am 7. Juli 1939 wurde ich, Renate Küllmer, als zweite Tochter des Zahnarztes Dr. Karl Küllmer und seiner Ehefrau Annelise geb. Friedrich in Bebra geboren.

Vom Herbst 1945 bis zum Frühjahr 1950 besuchte ich die Grundschule in Bebra. Dann wechselte ich auf das Realgymnasium für Mädchen (Luisenschule) in Bad Hersfeld über und bestand im Februar 1959 die Reifeprüfung.

Im Sommersemester des gleichen Jahres begann ich mit dem Studium der Zahnheilkunde an der Philipps-Universität zu Marburg/Lahn. Dort legte ich im Oktober 1961 die zahnärztliche Vorprüfung ab und bestand im September 1964 das Staatsexamen.

Seit dieser Zeit war ich mit meiner Doktorarbeit, die ich im Februar 1966 fertigstellte, am hiesigen Pharmakologischen Institut beschäftigt.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren
Professoren und Dozenten:

An der Philipps-Universität zu Marburg an der Lahn

Braun - Falco, Bücher, Dimroth, Gedigk, Hamm,
Hartmann, Hennis, Hensel, Hering, Heuser, Hornung,
Janke, Korb, Kottmeyer, Lang, Löhr, Mahr, Marx,
Maurath, Meyer, Niessing, Oksche, Pantke, Petry,
Rosemann, Schiff, Schmid, Seidel, Siegert, Siess,
Walcher.

